

SÉRIE A, N° 802
N° D'ORDRE
1594

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Hermann WESSBERGE

DOCTEUR EN MÉDECINE

1^{re} THÈSE. — LES VARIATIONS DE POIDS SUBIES PAR LES TISSUS MUSCULAIRE ET NERVEUX DANS L'EAU ET DANS QUELQUES SOLUTIONS SALINES SONT-ELLES CONDITIONNÉES PAR DES PHÉNOMÈNES OSMOTIQUES ?

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 8 Février 1918 devant la Commission d'examen :

MM. VÉLAIN.....	<i>Président.</i>
MATRUCHOT.....	} <i>Examineurs.</i>
PORTIER.....	

CAHORS

IMPRIMERIE TYPOGRAPHIQUE COUESLANT

1918

SÉRIE A, N° 802
N° D'ORDRE
1594

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Hermann WESSBERGE

DOCTEUR EN MÉDECINE

1^{re} THÈSE. — LES VARIATIONS DE POIDS SUBIES PAR LES TISSUS MUSCULAIRE ET NERVEUX DANS L'EAU ET DANS QUELQUES SOLUTIONS SALINES SONT-ELLES CONDITIONNÉES PAR DES PHÉNOMÈNES OSMOTIQUES ?

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 8 Février 1918 devant la Commission d'examen :

MM. VÉLAIN.....	<i>Président.</i>
MATRUCHOT.....	} <i>Examineurs.</i>
PORTIER.....	



CAHORS

IMPRIMERIE TYPOGRAPHIQUE COUESLANT

1918

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen P. APPELL, *Professeur*.. Mécanique analytique et Mécanique céleste.

Professeurs honor... { Ch. WOLF.
PUISEUX.

	LIPPMANN.....	Physique.
	BOUTY.....	Physique.
	BOUSSINESQ.....	Physique math. et calcul des probabilités.
	PICARD.....	Analyse supérieure et algèbre supérieure.
	Y. DELAGE.....	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
	Gaston BONNIER.....	Botanique.
	KENIGS.....	Mécanique physique et expérimentale.
	VÉLAIN.....	Géographie physique.
	GOURSAT.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
	HALLER.....	Chimie organique.
	JOANNIS.....	Chimie (Enseignement P.C.N.)
	JANET.....	Physique
	WALLERANT.....	Minéralogie.
	ANDOYER.....	Astronomie.
	PAINLEVÉ.....	Mécanique rationnelle.
	HAUG.....	Géologie.
<i>Professeurs</i>	HOUSSAY.....	Zoologie.
	H. LE CHATELIER.....	Chimie.
	Gabriel BERTRAND.....	Chimie biologique.
	M ^{me} P. CURIE.....	Physique générale.
	CAULLERY.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
	C. CHABRIÉ.....	Chimie appliquée.
	G. URBAIN.....	Chimie.
	Emile BOREL.....	Théorie des fonctions.
	MARCHIS.....	Aviation.
	Jean PERRIN.....	Chimie physique.
	G. PRUVOT.....	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
	MATRUCHOT.....	Botanique.
	ABRAHAM.....	Physique.
	CARTAN.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
	Cl. GUICHARD.....	Mathématiques générales.
	MOLLIARD.....	Physiologie végétale.
	N.....	Application de l'analyse à la géométrie.
	N.....	Histologie.
	N.....	Physiologie.
	LEDUC.....	Physique.
	MICHEL.....	Minéralogie.
	HÉROUARD.....	Zoologie.
	Léon BERTRAND.....	Géologie.
<i>Professeurs adjoints.</i>	Rémy PERRIER.....	Zoologie (Enseignement P.C.N.).
	COTTON.....	Physique.
	LESPIEAU.....	Chimie.
	GENTIL.....	Pétrographie.
	SAGNAC.....	Physique (Enseignement P.C.N.).
	PEREZ.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés).

Secrétaire D. TOMBECK.

A LA MÉMOIRE

DE

HERMANN-GEORGES-FRÉDÉRIC WESSBERGE,

MON PÈRE ET MON MAÎTRE

A LA MÉMOIRE
DU
PROFESSEUR A. DASTRE
MEMBRE DE L'INSTITUT

A
MONSIEUR CH. VÉLAIN
PROFESSEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES

ET A
MONSIEUR LOUIS LAPICQUE
PROFESSEUR AU MUSÉUM

Hommage de respectueuse gratitude.

AVANT-PROPOS

Ce n'est pas un raisonnement abstrait qui nous a incité à faire, sur certains sels minéraux, les quelques recherches qui vont être relatées dans ce mémoire. Ayant été amené, par diverses circonstances, à exercer pendant vingt ans la profession médicale (pour laquelle nous n'avions, d'ailleurs, pas plus d'aptitude que de goût), nous avons, dès le début de notre carrière, cherché à étudier systématiquement l'action thérapeutique des sels minéraux faisant normalement partie de l'organisme ; et bien qu'aucune théorie scientifique n'ait expliqué, d'une façon satisfaisante, l'assimilation et l'action de ces sels, nous avons été frappé des résultats produits par leur absorption. C'est pour tenter de jeter quelque lumière sur ce délicat problème, que nous avons demandé, en 1912, à M. le professeur Lapicque, de nous accorder l'accès de son laboratoire et de nous guider de ses conseils.

C'est lui qui nous indiqua, chemin faisant, le matériel sur lequel devaient porter nos expériences. Les indications qu'il nous donna, nous conduisirent, dès le début de nos recherches, à observer des résultats intéressants qui, à leur tour, nous montrèrent la voie que nous devons suivre dans nos expériences ultérieures. Nous lui devons encore de précieux renseignements bibliographiques qui nous permirent, autant que cela a été en notre pouvoir, de mettre la question au point.

Mais il est une chose, dont nous tenons surtout à remercier ici M. le professeur Lapicque : c'est de son indéfectible bien-

veillance. Nous nous sommes trouvé, dans le cours de nos travaux, devant des problèmes si délicats et si complexes, que si nous n'avions été soutenu par les encouragements de notre maître, nous ne serions peut-être pas venu à bout de notre modeste travail. Malheureusement, son aide nous a fait défaut quand nous en sommes venus à la rédaction. Pris tout entier par les préoccupations de la Défense nationale, il n'a pas pu revoir notre manuscrit. Je dois beaucoup aussi à M. René Legendre, le savant collaborateur de M. Lapicque ; qu'il me permette de le remercier, en particulier pour les leçons d'histologie qu'il m'a données et pour l'affectueuse sollicitude avec laquelle et a suivi et vérifié nos recherches microscopiques.

Nous tenons encore à exprimer toute notre reconnaissance à M. le professeur Ch. Vélain et à M. le professeur Matruchot d'avoir accepté de faire partie de la Commission d'examen.

A leurs noms, nous ajouterons celui de M. P. Portier, maître de conférences à la Sorbonne. Nous n'oublierons pas l'accueil qu'il fit à notre modeste thèse lorsqu'il fut chargé par la Faculté des Sciences de faire un rapport sur notre travail.

Qu'il nous soit enfin permis d'évoquer avec une respectueuse émotion la mémoire de notre maître vénéré, le professeur Dastre.

Depuis le temps déjà lointain où nous préparions notre licence, nous savions, en lui présentant notre thèse (quelques semaines avant sa mort), que nous n'avions rien à redouter de son habituelle indulgence. Mais comment ne pas rappeler ici les fréquents entretiens qu'il nous a accordés avec tant de bienveillante simplicité. Ceux que le professeur Dastre avait honorés de son amitié, savent ce qu'étaient ces heures inoubliables où nous nous sentions subjugués autant par la clarté et le charme de sa parole que par la précision et la profondeur de ses pensées.

Lorsqu'au mois d'août, nous nous excusâmes de ne pouvoir donner une explication satisfaisante des faits que nous lui avions apportés quelques semaines auparavant, notre maître souriant, nous répondit : « Vous n'expliquez pas les résultats de vos expériences, mais vous apportez des faits nouveaux et inattendus (1) qui aiguilleront les physiologistes sur des voies nouvelles. » Ce furent les dernières paroles que nous entendîmes de sa bouche : c'est sous leur égide que nous plaçons les pages qui vont suivre.

S'il plaît à nos juges de nous accorder le titre que nous sollicitons, qu'ils soient assurés que leur verdict ne nous rendra pas vaniteux. Nous ne nous faisons pas d'illusion sur la valeur de notre thèse. Plus nous avons étudié les problèmes qui se posaient devant nous, plus nous nous sommes rendu compte de l'immensité du sujet et de l'insuffisance de nos efforts. Et pourtant les faits qui se sont présentés à nous se sont manifestés avec une remarquable constance, et nous ont paru susceptibles d'être groupés en un faisceau d'observations qui posent la question de la perméabilité du protoplasma sous un jour tout à fait nouveau ; de sorte que si la multiplicité et la diversité des théories émises au sujet de la perméabilité cellulaire nous font craindre que la solution du problème soit encore lointaine, nous espérons n'avoir pas fait œuvre inutile en publiant nos observations. Puissent d'autres, plus habiles et plus savants que nous, se servir de notre modeste travail pour marcher à la passionnante, mais difficile conquête de la vérité.

(1) A l'époque où nous les avons publiés pour la première fois.

TABLE ANALYTIQUE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.....	17

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE

CHAPITRE PREMIER

Etude des phénomènes osmotiques au point de vue purement physique

(D'après M. le professeur A. DASTRE)

<i>Différentes sortes de membranes</i>	24
<i>Membranes artificielles et perméables</i>	25
Analyse du phénomène osmotique à travers ces membranes	25
Comparaison des liquides différents au point de vue de leur énergie osmotique	26
Comparaison de solutions de même nature à des concentrations différentes	27
Essai d'explication du phénomène osmotique	27
Perméabilité et osmose	28
Indépendance de la perméabilité et de l'osmose	28
Nécessité de l'affinité des liquides pour la membrane.	29
Image théorique de l'osmose	30
<i>Cloisons artificielles hémiperméables</i>	32
Théories émises sur la constitution des membranes de précipité et sur les phénomènes osmotiques dont elles sont le siège	33
Restrictions à l'hémiperméabilité des membranes de précipité	34
Hypothèses sur la perméabilité relative des membranes de précipité	35
Théorie du crible	35
Théorie de la solubilité	36
Théorie de la vaporisation	37
Résultat des mesures osmométriques directes	37
Lois de l'osmose	38
Loi des concentrations moléculaires (de Vries)	38
Coefficient isotonique	39
Signification du coefficient isotonique	39

Hypothèse d'Arrhénius	39
Hypothèse de Van t'Hoff et forme définitive des lois de l'osmose	41
Influence de l'état électrostatique de la membrane (C. Girard)	42
Résumé	43

CHAPITRE II

La cellule vivante considérée comme système osmotique susceptible de se gonfler

Théorie lipoïde. (Overton)

<i>Cellules végétales</i>	16
Rôle du protoplasma dans les phénomènes osmotiques .	46
Premières conclusions de Naegeli, Hofmeister, Pfeffer, et de Vries	16
La membrane protoplasmique et son rôle osmotique d'après Pfeffer	48
Valeur morphologique des membranes limitantes du protoplasma.	19
Recherches de de Vries sur la plasmolyse	52
Exceptions à l'imperméabilité de la membrane plasmique	53
Nouvelles expériences de Naegeli et de de Vries	53
<i>Théorie Lipoïde</i>	54
Exposé de cette théorie	54
Solubilité dans les lipoïdes et force narcotisante	56
<i>Cellules animales</i>	57
Recherches sur les propriétés osmotiques des cellules animales	57
Application de la théorie lipoïde aux cellules animales .	62
Variations de volume des globules rouges dans des solutions salines et sucrées de différentes pressions osmotiques	63

CHAPITRE III

Critique de la théorie lipoïde

(D'après Höber)

Caractère incomplet de la théorie lipoïde	66
Objections et théorie de Traube	68
Coloration vitale des cellules	71
La cholestérine et la lécithine considérées comme lipoïdes et étudiées dans leurs rapports avec les hémolysines	72
Théorie d'Overton sur la coloration vitale	74

Objections à cette dernière théorie	75
Objections de J. Lœb et de Bang à la théorie lipoïde ...	78
Quelques influences nocives exercées par les sucres ...	80
Répartition du sucre sur les cellules et leur milieu ambiant	82
Répartition des sels	82
Etat des sels à l'intérieur des cellules	84
Perméabilité des tissus aux acides et aux bases	85
Restrictions à l'imperméabilité absolue de la membrane	86
La membrane n'est pas uniquement une membrane li- poïde	86
Perméabilité à l'eau	88
Conception de Nathanson sur la membrane	88
Considérations sur la structure de la membrane des globules sanguins	89
Modifications réversibles dans la perméabilité de la membrane	90
Travaux de P. Girard	94
Perméabilité normale de certaines cellules à des subs- tances insolubles dans les lipoïdes	96
Perméabilité physique passive et perméabilité physiolo- gique active	100
Conclusions de Höber sur la théorie lipoïde	104
Théorie de Mayer et Schaeffer	106

CHAPITRE IV

Influence des sels minéraux sur le fonctionnement des cellules

<i>Généralités</i>	120
A quoi servent les sels minéraux ?	120
Nécessité des sels minéraux à l'entretien de la vie	122
Chaque sel minéral exerce une action spécifique	123
Les proportions dans lesquelles les sels minéraux doi- vent être présents pour exercer une action optima sont des proportions définies	123
<i>Action des solutions salines pures</i>	125
Relations, entre les électrolytes et les colloïdes cellu- laires	125
Action primaire des électrolytes sur les colloïdes de la membrane plasmique (D'après Höber)	129
Action des sels alcalins sur les globules rouges	130
Action des sels alcalins sur les pigments ovulaires	132
Influence des sels alcalins sur la parthénogenèse	133
Action des sels sur le transit des matières colorantes à travers les cellules végétales	134
Influence des ions de chlore sur le système nerveux central	135

Influence des sels alcalins sur les mouvements des cils vibratiles	135
<i>Influence des sels minéraux sur l'excitabilité et la contractilité musculaires</i>	136
Contractions rythmiques des muscles squelettiques	136
Rôle des sels minéraux à cations monovalents	136
Rôle du calcium et du magnésium	137
Expériences sur les tissus contractiles séparés de leurs centres nerveux	137
Mécanisme de l'action des solutions salines	141
Excitabilité de contact	147
Importance de la réaction de la solution saline excitatrice	149
Recherches d'Overton touchant l'influence du sodium sur l'excitabilité musculaire	150
Influence du sodium sur la conductivité	152
Actions antagonistes de quelques sels minéraux sur l'activité musculaire (d'après Overton)	153
Influence des sels alcalins sur les courants musculaires.	160
Influence des sels sur le tissu nerveux, sur la sensibilité et l'excitabilité des organes	162
<i>Action des mélanges alcalins. — Actions antagonistes des différents sels</i>	169
Toute solution saline pure est nocive pour les cellules .	169
Solution de Ringer	169
Actions antagonistes de différents sels (Lœb)	170
Mécanisme des actions antagonistes des sels minéraux .	171
Hypothèse de Lœb sur le mode d'action des cations à fonction antitoxique	173
Rôle que jouent les cations dans les phénomènes vitaux.	177
Substances nutritives proprement dites, et substances protectrices	177
Influence des mélanges salins sur les mouvements ciliaires	183
Importance des anions sur les mélanges d'électrolytes.	185
Action du calcium	189
Potassium et magnésium	190
Hypothèses émises sur la perméabilité cellulaire, et fondées sur les actions antagonistes des sels minéraux (Osterhont, Spaeth, Clowes)	190

CHAPITRE V

Phénomènes d'imbibition observés sur les différents tissus

<i>Imbibition du tissu musculaire</i>	214
Phénomènes d'imbibition observés sur des muscles reposés, immergés dans des solutions salines	217

Variations de poids subies par le tissu musculaire immergé : α dans des solutions d'un même sel à des concentrations différentes	218
β dans des solutions de différents sels d'égale concentration	219
Action des acides et des bases sur l'imbibition du tissu musculaire	220
Conception de Lœb : α sur la membrane plasmique du tissu musculaire	226
β sur la membrane cellulaire en général.....	229
Phénomènes d'imbibition et rapport avec l'activité musculaire	232
Recherches d'Overton sur l'imbibition du tissu musculaire	232
Recherches de Fletcher	244
Recherches de Edw. B. Meigs.....	247
Recherches de H. Laugier et H. Bénard sur les propriétés osmotiques des muscles	251
Recherches de Meigs sur l'imbibition des muscles lisses	258
Recherches de Siebeck sur l'imbibition des muscles.....	260
<i>Perméabilité de l'Intestin (Höber)</i>	262
<i>Imbibition du tissu tendineux (Zacchariadès)</i>	262
<i>Gonflement des tendons dans l'eau distillée et dans les solutions salines</i>	264
<i>Perméabilité de la peau de grenouille à l'eau distillée et aux sels minéraux (Maxwell)</i>	266
<i>Perméabilité des cellules rénales (Siebeck)</i>	269
<i>Imbibition du tissu nerveux (Hooker et M. Fischer)</i>	276
<i>Recherches histologiques en rapport avec les phénomènes d'imbibition du tissu nerveux</i>	281
Influence des solutions salines sur l'image microscopique des nerfs (Höber)	281
Recherches de R. Legendre et Minot sur la conservation des ganglions spinaux dans le sang défibriné	283
Modifications subies par les ganglions spinaux immergés dans des solutions salines (R. Legendre)	286

DEUXIÈME PARTIE

EXPOSÉ DE NOS RECHERCHES

CHAPITRE PREMIER

Imbibition du tissu musculaire

Matériel et technique opératoire	290
Action d'une solution neutre de NaCl à 7 : 1.000 sur un gastrocnémien de grenouille	290

Inconstance de ses variations de poids	291
Comparaison de nos résultats avec ceux des auteurs	298
Action du Potassium et du Calcium sur l'imbibition du tissu musculaire	299
Imbibition du tissu musculaire dans des solutions de NaCl, KCl et CaCl^2 de concentration égale à N	302

CHAPITRE II

Imbibition du tissus nerveux

Matériel et technique opératoire	313
Imbibition dans l'eau distillée	313
Imbibition du tissu nerveux dans des solutions d'un même sel à des concentrations différentes	318
Influence des réactions post-mortem sur l'imbibition des encéphales	330
Réactions d'un encéphale immergé dans une solution de NaCl dont la concentration est alternativement dimi- nuée et augmentée	336
Action comparée de solutions isotomiques de NaCl, KCl, CaCl^2 et de saccharose	339
Influence de la température sur les phénomènes d'imbi- bition	347
Variations de poids subies par les substances grise et blanche du cerveau de cheval immergées dans des solutions de NaCl, KCl et CaCl^2	348

CHAPITRE III

Modifications histologiques observées sur des encéphales immergés dans des solutions de NaCl, KCl et CaCl^2

Généralités	355
Deshydratation du tissu nerveux dans l'alcool à 90°	356
Constantes de deshydratation	356
Examen des coupes microscopiques	364

TROISIÈME PARTIE

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Généralités	371
Objections à la théorie d'Osterhout	372
Objections à la théorie de Spaeth	372
Objections à la théorie de Clowes	377
Les résultats de nos expériences sont-ils conciliables avec l'hypothèse de Mayer et Schaeffer	379
Conclusions	381

INTRODUCTION

Lorsqu'on parcourt les travaux qui ont été écrits sur les échanges cellulaires et, en particulier, sur l'imbibition des tissus dans des solutions diverses, on est frappé de ce fait, c'est que la presque unanimité des auteurs ont admis, *a priori*, que les échanges entre le protoplasma et le milieu extérieur de la cellule, devaient être conditionnés par des *phénomènes osmotiques*. Et cependant, peut-on accepter une telle hypothèse sans restrictions ? Nous verrons plus loin (page 24) qu'un phénomène osmotique suppose 3 facteurs : 1° un liquide intérieur ; 2° un liquide extérieur ; et, enfin, 3° une membrane séparant les deux liquides.

Si on peut, à la rigueur, *supposer* que ces conditions soient réalisées lorsqu'il s'agit d'éléments unicellulaires nageant dans un liquide ambiant (globules sanguins), ne semble-t-il pas bien téméraire d'assimiler les phénomènes qui s'accomplissent au sein des tissus, à ceux étudiés par Dutrochet et les physiiciens qui ont étudié l'osmose après lui ? Est-il nécessaire de rappeler que l'existence même d'une membrane cellulaire (sans laquelle il serait impossible de concevoir l'accomplissement de phénomènes osmotiques), n'est pas démontrée d'une façon certaine, au moins pour un grand nombre de cellules animales ? Il nous parut donc légitime d'étudier les variations de poids subies par certains tissus immergés dans l'eau et dans quelques solutions salines, avec l'intention d'examiner si les phénomènes observés étaient explicables par les lois de l'osmose ou si, au contraire, ces lois étaient en opposition avec les faits expérimentaux.

Nous verrons plus tard que, dès nos premières expériences faites en 1912 et publiées à la société de Biologie en 1913 (1), nous fûmes amenés à constater que le tissu nerveux s'imbibait considérablement dans des solutions de Chlorure de sodium très hypertoniques, par rapport au sérum sanguin (solutions de NaCl, allant de 8 p. 1000 à 69 p. 1000). Peu de temps après, parurent deux publications, dont l'importance ne devait échapper à personne.

La première, est celle de MM. Mayer et Schaeffer (2). Sans nier, d'une façon formelle, l'existence d'une membrane cellulaire, ces auteurs pensent, cependant, qu'« elle n'est pas certaine » (page 5). Au lieu d'envisager les phénomènes d'imbibition au point de vue *dynamique*, ils les étudient au point de vue *statique*, en se fondant sur la propriété qu'ont certains colloïdes cellulaires de contracter avec l'eau une liaison énergétique, « d'où se déduit l'existence d'une nouvelle force motrice : la PRESSION D'IMBIBITION, force à coup sûr importante que les recherches sur la pression osmotique avaient fait négliger » (*loc. cit.*, p. 6). C'était, en quelque sorte, dépacier la question du terrain trop spécial de la physique pure, pour la transporter sur son terrain véritable, celui de la biologie. En effet, se fonder sur la liaison que contractent certains colloïdes cellulaires avec l'eau, c'était faire intervenir, dans l'étude des phénomènes d'imbibition, les propriétés physico-chimiques particulières à chaque espèce de cellule ; et du même coup, c'était, comme nous l'avaient fait pressentir certaines de nos expériences, tenter d'expliquer la diversité d'action des sels minéraux par la diversité des réactions chimiques résultant du conflit entre chacun de ces sels et les différents colloïdes entrant dans la composition des différentes cellules.

(1) Hermann Wessberge, Société de Biologie, séance du 28 juin 1913.

(2) André Mayer et Georges Schaeffer : *Journal de Physiologie et de Pathologie générale*, Masson et C^{ie}, 15 janvier 1914.

La seconde publication fut la note de MM. L. Lapicque et R. Legendre à la société de Biologie (1). Ces savants étant parvenus à examiner au microscope des nerfs vivants et non séparés de l'animal (sciatique de grenouille), montrèrent qu'il était impossible de découvrir une membrane quelconque à la périphérie du nerf, et que les images microscopiques présentées par les tissus *vivants* étaient fort différentes de celles offertes par les coupes histologiques examinées après l'action des réactifs employés à leur préparation. La troublante découverte de ces physiologistes était, en quelque sorte, la contre-partie du travail de Mayer et Schaeffer, puisqu'elle ne tendait à rien de moins qu'à mettre en doute tout ce que l'on croyait savoir sur la structure des surfaces limitantes des cellules.

A partir de ce moment, le plan de ce mémoire était tout tracé ; il se résumait en deux questions : 1° les faits observés par nous sont-ils explicables par les lois de l'osmose et les théories émises jusqu'alors sur la perméabilité cellulaire ? 2° S'ils ne le sont pas, comment les concilier avec les faits observés par Mayer et Schaeffer d'une part, et L. Lapicque et R. Legendre d'autre part ?

Toutefois, avant de relater nos expériences et de les commenter, il nous a paru intéressant de faire l'historique de la question.

Ce mémoire comprendra donc trois parties. La première sera consacrée à l'historique ; la seconde à l'exposé de nos recherches, et enfin la troisième à la discussion de nos résultats, ainsi qu'aux conclusions que nous croyons pouvoir en tirer.

(1) Louis Lapicque et René Legendre : Comptes rendus de la Société de Biologie, 1914.

PREMIÈRE PARTIE

Historique

Bien que l'étude des phénomènes physico-chimiques qui accompagnent les manifestations de la vie soit de date récente, la liste des travaux, publiés sur ce sujet est déjà longue. Parmi ces travaux, nous voudrions, au début de cet historique, en mentionner quelques-uns d'une façon toute spéciale, parce qu'ils ne résument pas seulement les recherches personnelles de leurs auteurs, mais qu'ils constituent chacun un travail d'ensemble et une véritable mise au point de la question, à l'époque où ils ont été écrits.

C'est tout d'abord le mémoire du professeur Dastre sur l'osmose (1) ; puis le mémoire de Boruttau (2) dont nous avons trouvé l'indication bibliographique dans l'intéressant mémoire de Laugier et Bénard (3). Citons encore le magistral chapitre écrit par Overton dans le « Manuel de physiologie » de Nagel (4) ; l'ouvrage de J. Loeb (5) intitulé « Dynamique des phénomènes de la vie », et enfin le traité de R. Höber (6) sur la « *Chimie physique des cellules et des tissus* ».

Ces auteurs ne se sont pas contentés de citer les travaux parus avant les leurs ; ils les ont commentés d'une façon si complète et si précise qu'à maintes reprises, nous avons cru ne pouvoir mieux faire que de reproduire des pages entières de leurs remarquables ouvrages.

(1) A. Dastre : Osmose, Tonometrie, Cryoscopie, Masson et C^{ie}, 1901.

(2) Boruttau : Muskel und Nervenphysiologie. Physiologische Chemie und Medizin de Koranyi et Richter, Leipzig 1907.

(3) Henri Laugier et Henri Bénard. Journal de physiologie et de pathologie générale. Nov. Juillet 1911.

(4) Nagel's Handbuch der Physiologie des Menschen. T. II, ch. II, 1907.

(5) J. Loeb. Dynamique des phénomènes de la vie. Alcan 1908.

(6) R. Höber. Physikalische Chemie der Zellen und der Gewebe.

Leipzig 1911.

En ce qui concerne la partie histologique de notre mémoire, l'historique tient presque tout entier dans les intéressantes recherches de R. Legendre (1) et dans la communication de M. le professeur Lapique et Legendre, à la société de Biologie en 1914.

Un mot encore avant d'aborder l'analyse des travaux que nous allons citer dans l'historique de notre thèse. Il arrive que des recherches faites sur un même sujet aient été publiées à des dates très distantes les unes des autres. Ainsi les recherches de Dutrochet sur l'osmose furent faites de 1826 à 1837 ; le mémoire de M. le professeur Dastre sur le même sujet a été publié en 1901, et les travaux de P. Girard sur l'osmose électrique en 1912, 1913 et 1914 (2). Il est bien évident qu'entre ces différentes dates, il a été fait sur d'autres questions se rapportant à notre sujet, des travaux aussi nombreux que variés. D'autre part, il arrive à certains auteurs d'aborder dans une même publication, des questions très différentes les unes des autres, il s'ensuit que si nous nous attachions à observer l'ordre rigoureusement chronologique dans lequel ces divers travaux ont été publiés, nous serions forcés de traiter simultanément des questions très différentes ; et il en résulterait, d'autre part, que les diverses questions abordées dans l'historique qui va suivre, seraient tellement enchevêtrées les unes dans les autres, que la lecture de notre exposé en serait rendue insupportable. Nous avons éprouvé trop de difficultés à essayer de rassembler les faits épars et de les relier les uns aux autres, pour que nous ne nous efforçons pas d'apporter un peu d'ordre dans l'exposé d'une question singulièrement complexe. Nous grouperons donc les travaux en ne tenant compte que des faits qu'ils relatent et des rapports que ces faits ont entre eux, et cela sans avoir égard à leur chronologie. Ce qui importe, c'est l'enchaînement des faits ; les dates auxquelles ils ont été publiés n'ont qu'un intérêt secondaire.

(1) Thèse de doctorat ès-sciences (Masson et C^{ie} 1909) ; travaux faits au Laboratoire de physiologie générale du Muséum et publiés soit par R. Legendre seul, soit par R. Legendre et Minot, à la Société de Biologie. Les indications bibliographiques exactes seront données dans le cours de ce mémoire.

(2) P. Girard « La pression osmotique et le mécanisme de l'osmose ».

Publications de la Société de chimie physique 1912, et comptes rendus de l'Académie des sciences, 1913-1914.

Et maintenant, puisque le but même de notre travail est de chercher à établir si les phénomènes observés par nous sont ou ne sont pas des phénomènes osmotiques, il est naturel que nous commencions notre historique en définissant avec quelque précision ce qu'est un phénomène osmotique considéré au point de vue purement physique. Nous empruntons ce premier chapitre à l'ouvrage déjà cité du professeur Dastre.

CHAPITRE PREMIER

Considérations générales sur les phénomènes osmotiques

Différentes sortes de membranes. Membranes artificielles perméables. — Membranes artificielles hémiperméables. — On sait depuis les recherches de H. Dutrochet (1826), que lorsque deux liquides différents, mais miscibles, sont séparés par une cloison *perméable*, ces deux liquides se dirigent l'un vers l'autre à travers la cloison. Si, par exemple, on remplit d'eau sucrée un flacon dont le fond ait été remplacé par une membrane appropriée et dont le goulot soit muni d'un tube de verre gradué, et que l'on plonge ce flacon (osmomètre de Dutrochet), dans un vase rempli d'eau pure, on observe qu'il se produit un double courant : l'un, le plus rapide et le plus énergique, va de l'eau (vase extérieur), vers la solution sucrée (vase osmométrique), — c'est le courant *endosmotique* ; l'autre courant, le plus faible, se dirige dans le sens inverse, c'est-à-dire de l'eau sucrée vers l'eau pure, — c'est le courant *exosmotique* ou *diosmotique*.

On peut répéter cette expérience avec des liquides variant à l'infini. Selon les propriétés de ces derniers, les courants subiront une impulsion (*ωσμος*) variable, et le courant le plus fort se dirigera tantôt du vase intérieur vers le vase extérieur, tantôt dans le sens contraire. Or, *quel que soit le sens du courant le plus fort*, qu'il aille du flacon intérieur vers le vase extérieur ou vice-versa, Dutrochet convint de l'appeler *endosmose* ou *courant principal* ; il réserva au courant inverse (le plus faible), le nom d'*exosmose* ou de *diosmose*.

On conçoit, d'autre part, qu'avec un choix convenable de liquides, les deux courants auront, à un moment donné, une *énergie égale* : on dira alors que les deux liquides sont *isotoniques*.

*Il importe d'insister, dès maintenant, sur ce fait, c'est que Dutrochet, qui observa le premier les phénomènes que nous venons de décrire, opérait avec des membranes PERMÉABLES. Ces membranes permettent le double transit qui caractérise l'osmose. Elles peuvent être empruntées, soit au règne minéral (cloisons de grès), soit au règne végétal (gousse de bague-naudier), ou enfin du règne animal (vessie de porc, peau de grenouille, intestin de poulet). Ces membranes sont dites *artificielles* parce que, même lorsqu'elles proviennent d'êtres vivants, elles sont utilisées dans des conditions différentes de celles où elles fonctionnent réellement et physiologiquement (Dastre). Elles constituent un premier groupe : celui des *membranes artificielles perméables*.*

A côté de ces dernières, il est des membranes artificielles que construisirent Traube (1865) et Pfeffer (1877). Leur caractéristique est d'être *hémiperméables*, c'est-à-dire perméables à l'eau, et imperméables aux autres substances. Ces membranes, sur lesquelles nous reviendrons plus tard (v. page 32), constituent un second groupe : celui des *membranes artificielles hémiperméables*.

Dutrochet, nous l'avons dit, fit porter ses recherches sur les membranes artificielles et perméables : c'est d'elles que nous allons parler tout d'abord.

Membranes artificielles et perméables : Analyse du phénomène osmotique à travers ces membranes. — Le phénomène d'osmose observé par Dutrochet comprend deux phases.

PREMIÈRE PHASE. — Dans la première, c'est le mouvement *endosmotique* qui l'emporte ; dans la seconde, c'est l'*exosmose*. Par exemple, si l'on emploie l'eau (vase extérieur) et le sirop de sucre (vase intérieur), on verra l'eau pénétrer dans ce dernier et élever progressivement le niveau du liquide dans le tube, jusqu'à une hauteur maxima. Cette ascension de la colonne liquide intérieure traduit la prédominance du courant endosmotique sur l'autre. C'est la première phase. A mesure que le niveau approche de sa hauteur maxima, la vitesse de son ascension va en diminuant. Cette vitesse est donc *variable et décroissante* du début de l'opération jusqu'au moment où le maximum est atteint.

Dutrochet a essayé de déterminer la vitesse et l'énergie du mouvement ascensionnel, c'est-à-dire de la *force* ou de la *pression osmotique*. Le résultat le plus général de ses recherches, c'est que, lorsqu'on opère sur une même substance, *la vitesse et la pression osmotiques vont en augmentant à mesure que l'on emploie des solutions de plus en plus concentrées*. Ainsi, avec un sirop de sucre de densité 1,07 dans le flacon osmométrique (vase intérieur) et de l'eau pure à l'extérieur de la membrane, Dutrochet constata que le mouvement ascensionnel dans son appareil s'arrêtait au bout de 36 heures. La colonne d'eau soulevée équivalait à une colonne de mercure de 617 millimètres de hauteur. Avec un sirop de sucre de densité 1,11 et toutes choses égales d'ailleurs, on constate que le mouvement ascensionnel s'arrête au bout de 48 heures ; la colonne soulevée, en mercure, est de 1 m. 283.

DEUXIÈME PHASE. — « Après s'être maintenue quelque temps à sa hauteur maxima, le niveau du liquide intérieur commence à baisser lentement. Cet abaissement est dû à ce que la concentration de la solution intérieure diminue par suite de la sortie d'une petite partie du sucre entraînée par le courant exosmotique, et par suite de l'introduction de l'eau par le courant endosmotique. Ce mouvement de dénivellation et de dilution se continue avec une extrême lenteur jusqu'à ce que, enfin, la concentration soit la même dans le vase intérieur et extérieur, les niveaux les mêmes, et la composition du liquide uniforme. » (Page 474).

Comparaison des liquides différents au point de vue de leur énergie osmotique. — Dutrochet avait constaté des différences considérables dans l'énergie endosmotique des solutions diverses.

Les premières expériences avaient fait croire que le pouvoir osmotique était en rapport avec la densité, par exemple, que le courant prédominant, endosmotique, s'établissait du liquide le moins dense vers le plus dense. Mais des expériences ultérieures infirmèrent les premiers résultats de Dutrochet. Exemples :

1^{re} *Expérience de l'abbé Nollet*. Si on sépare de l'eau et de l'alcool par une membrane animale, on constate que le mou-

vement a lieu de l'eau (liquide le plus dense), vers l'alcool (liquide le moins dense).

2° Avec des solutions d'acides tartrique, citrique, oxalique, chlorhydrique, etc., le courant est dirigé, tantôt vers l'acide, c'est-à-dire vers le liquide le plus dense (solutions fortes), tantôt vers l'eau, c'est-à-dire le liquide qui l'est le moins.

3° Si on acidule de l'eau sucrée (1 partie de sucre pour 16 parties d'eau), avec de l'acide oxalique, l'osmose s'inverse (1) et se fait alors de la solution sucrée vers l'eau pure. Ces faits montrèrent à Dutrochet l'indépendance des phénomènes osmotiques d'avec la densité.

Comparaison de solutions de même nature, mais à des concentrations différentes. — Dutrochet expérimenta sur des solutions aqueuses d'une même substance dissoute dans des proportions différentes, et mesura leurs vitesses et leurs pressions osmotiques en les comparant à leurs densités. Il en déduisit la loi suivante :

« Les vitesses d'endosmose correspondant aux diverses densités du liquide intérieur, sont proportionnelles aux excès de la densité de ces liquides sur la densité de l'eau (liquide extérieur). »

Pour les pressions osmotiques, la loi est la même et s'énonce ainsi :

« Les pressions osmotiques correspondant aux diverses densités d'une même solution intérieure — l'eau pure étant le liquide extérieur et la température constante — sont proportionnelles aux excès de densité de la solution sur l'eau extérieure. »

Toutefois, fait observer M. le professeur Dastre, Dutrochet reconnut lui-même que cette loi n'était point d'une application générale.

L'élévation de température favorise l'échange osmotique.

Essai d'explication du phénomène osmotique. — Perméabilité et osmose. — Pour expliquer le rôle osmotique de la

(1) Pierre Girard en a, croyons-nous, donné l'explication dans sa note présentée par le prof. Dastre à l'Académie des sciences.

Comptes rendus de l'Acad. des sciences 1913.

membrane, on a invoqué une particularité commune à toutes les cloisons : leur *porosité*. Mais il faut distinguer deux sortes de porosités : une porosité moléculaire et une porosité de structure.

La *porosité moléculaire* provient de ce que les molécules de la matière laissent entre elles des vides, des *pores moléculaires*. « Cette porosité intervient dans le phénomène d'osmose, parce que c'est elle qui permet la *dissolution* et la *diffusion* des substances les unes dans les autres, condition essentielle de l'osmose, ainsi qu'on le sait depuis Graham. »

La *porosité de structure* est une particularité accidentelle de quelques corps (éponges, pierre ponce, grès). « Les pores sont alors des lacunes, des vides souvent considérables qui peuvent devenir appréciables à l'œil nu et se prêtent au jeu des forces capillaires, tandis que les pores moléculaires, au contraire, échappent aux sens, comme les molécules elles-mêmes, parce qu'ils sont sensiblement de même ordre de grandeur. »

La porosité de structure intervient dans les phénomènes d'osmose d'une façon accessoire, à son début, et pour ainsi dire pour l'amorcer (Poisson). C'est à elle que sont dus les phénomènes d'*imbibition*, de *filtration* ; elle se mesure sous le nom de *perméabilité*. Mais les forces capillaires résultant de la porosité de structure, ne suffisent pas à produire l'osmose.

Indépendance de la perméabilité et de l'osmose. — La perméabilité prise dans le sens que lui donne le professeur Dastre est indépendante de l'osmose. Ainsi l'osmose n'a pas lieu à travers les pores capillaires des cloisons siliceuses ; par contre, on peut observer les phénomènes essentiels de l'osmose à travers des cloisons *sans perméabilité* (1), formées par des liquides solidifiés (gélatine). Il faut donc faire intervenir d'autres facteurs que la porosité.

(1) Nous venons de voir ce que l'on devrait entendre par « imbibition » et par « perméabilité » dans le sens rigoureux de ces mots. Mais pour nous conformer à l'usage de presque tous les auteurs, nous donnons, dans le cours de ce mémoire, à ces deux expressions un sens plus général que celui que leur donne M. le prof. Dastre. Par « *imbibition* » nous entendons d'une façon générale, toute imprégnation d'un tissu ou d'une substance quelconque par le liquide ambiant ; et nous entendons par « *perméabilité* » la propriété que possède un corps quelconque à se laisser traverser par la ou les substances auxquelles il est perméable, quel que soit le mécanisme de ce transit.

Nécessité de l'affinité des liquides pour la membrane. — Nous avons vu plus haut que pour qu'il y eût *osmose*, il fallait que les liquides fussent miscibles et que la cloison membraneuse fût mouillée, c'est-à-dire en *contact intime* avec au moins l'un des liquides.

Mais à ces conditions, il faut en ajouter une autre. Dutrochet observa qu'il fallait qu'un des deux liquides, au moins, eût une certaine *affinité* pour la cloison séparatrice. Si nous séparons de l'eau et de l'alcool par des membranes perméables, mais dont l'*affinité physique* soit variable pour l'un et l'autre liquide, c'est-à-dire par des membranes qui soient susceptibles d'être mouillées uniquement par un des deux liquides, on remarque que le courant endosmotique (le plus énergétique), a lieu du liquide qui entre le plus intimement en contact avec la membrane, vers l'autre. Ainsi le courant principal a lieu de l'alcool vers l'eau, si la membrane n'est mouillée que par l'alcool (membrane de caoutchouc) ; au contraire, l'eau marche vers l'alcool si la membrane n'est mouillée que par l'eau (vessie de porc).

Mais voici un fait qui va jeter quelque lumière sur l'importance de l'affinité de la cloison, dont nous parlions plus haut avec les liquides qui la baignent. Si on étudie les phénomènes osmotiques avec des plaques de porcelaine dégourdie, on voit que ces phénomènes sont insignifiants ou nuls ; ils sont, au contraire, très appréciables avec des plaques de terre de pipe (argile blanche). Or, la constitution des plaques n'est pas très différente ; « des deux parts, c'est un silicate d'alumine avec excès de silice dans le cas de la porcelaine, avec excès d'alumine dans le cas de l'argile ; leur constitution physique les rapproche plus encore ; l'une et l'autre sont poreuses, perméables à l'eau et aux solutions salines, et pouvant l'être à degré égal sous des épaisseurs convenables. Si l'on cherche un trait qui les distingue, on trouvera celui-ci : l'argile, ou plutôt l'alumine, qui en est la base, fixe l'eau et la retient combinée avec tant de force, qu'elle n'en n'est privée que par une cuisson énergétique. Or, les membranes organisées propres, elles aussi, à l'osmose, se trouvent dans le même cas... D'après cela, la perméabilité (1) de la

(1) Puisque nous citons textuellement le prof. Dastre, il est évident que le mot doit ici être pris dans le sens strict que cet auteur lui donne (Voir page 27).

cloison osmotique étant mise hors de cause, son caractère essentiel serait son affinité pour l'eau. Dans le cas général, ce caractère, c'est l'affinité pour l'un des deux liquides mis en présence : c'est celui-ci qui, précisément, manifesterait le courant le plus énergique, le courant d'endosmose ainsi que cela ressort des phénomènes osmotiques présentés par l'alcool et l'eau séparés par des membranes de différente nature et dont nous avons déjà parlé » (page 29).

La cloison « serait une couche pénétrable à l'eau, de par sa constitution physique, et capable de s'hydrater à des degrés divers, de former des combinaisons diverses avec l'eau, de par ses propriétés chimiques... Il résulte de là, que la cloison en activité constitue une sorte de composé, d'hydrate, différent de l'un et de l'autre liquide qu'elle sépare. *La membrane humectée (hydratée dans le cas d'osmose entre les liqueurs aqueuses), forme comme une troisième couche, un troisième liquide interposé aux deux autres et dans lequel ceux-ci peuvent inégalement se répandre ou se diffuser* ». (Dastre, l. cit., p. 184).

Image théorique de l'osmose. — On sait qu'en 1877 Naegeli proposa une théorie nouvelle sur la constitution de la matière organisée. D'après cette *théorie micellaire*, la matière organisée « serait formée, non comme les corps inorganiques, de simples molécules physiques, celles-ci résultant elles-mêmes de groupements d'atomes soumis aux forces physiques. Elle est formée d'associations de molécules, d'édifices moléculaires ayant figure, que Naegeli a appelés *micelles*... Parmi les propriétés des micelles qui se rapportent à notre objet, il faut mentionner *l'attraction qu'elles exercent les unes sur les autres, et l'attraction plus grande qu'elles exercent sur l'eau*. Dans les corps organisés, desséchés, les micelles sont rapprochées, serrées en ordre compact, séparées les unes des autres par une couche d'eau mince et adhérente à leur surface. Dans le corps organisé, humide, soumis à l'imbibition, les éléments micellaires avides d'eau l'ont attirée avec plus de force qu'ils n'en mettent à s'attirer entre eux, de telle sorte qu'ils ont été écartés pour lui faire place. C'est ainsi, par interposition de molécules aqueuses entre les micelles organiques (intus susception), que se produit l'ac-

croissement de volume de la matière organique, sous l'influence de l'eau ; le même mécanisme intervient dans la production du *gonflement* et de la *turgescence*. Le corps organisé se gonfle donc, mais ne se dissout pas. Il ne se dissout pas, selon Naegeli, « parce que la force d'attraction pour l'eau diminue plus rapidement que la force d'attraction des micelles entre elles, lorsque celles-ci s'écartent, de telle sorte que, quand les couches d'eau ont acquis une certaine puissance, il s'établit un état d'équilibre qui correspond précisément à la limite du gonflement...

« Dans la membrane osmotique organisée, comme dans toute matière organisée en général, l'eau peut se trouver à trois états qui diffèrent par le degré de mobilité ou de liberté de ses molécules. Une partie de l'eau, *eau de constitution*, est fixée sur les groupes atomiques : elle est immobilisée par les forces chimiques, et il faudrait décomposer la matière pour la libérer. Une seconde portion est attachée à l'agrégat micellaire, et forme autour de lui une sorte d'atmosphère enfermant naturellement, avec les molécules de ce groupement, leur masse aqueuse propre. Cette atmosphère micellaire est composée de couches concentriques, dont la plus voisine de la surface du micelle y adhère le plus fortement par l'action des forces de cohésion, tandis que les couches plus éloignées sont de plus en plus lâchement retenues et de plus en plus mobiles ; c'est l'*eau d'adhésion*. Enfin, entre ces micelles entourées de leur atmosphère aqueuse, dans leurs interstices, l'*eau de capillarité*, celle-ci libre et mobile. » (Dastre, l. cit., p. 484 et 485).

Or, « l'osmose de l'eau à travers une membrane ne met en jeu que l'*eau de capillarité* et l'*eau d'adhésion*... L'eau qui chemine dans la cloison de l'osmomètre obéit en partie à la capillarité ; une autre portion est sujette à entrer en *union passagère* avec les atmosphères des micelles aqueuses, et à s'ajouter aux couches les plus excentriques ; c'est de l'eau asservie par l'attraction micellaire et qui, par conséquent, ne peut manifester à leur ordinaire degré, les propriétés et les caractères de l'eau libre. A la face interne de la membrane, au contact avec le liquide intérieur avide d'eau lui aussi, il s'établit un conflit. L'eau des couches excentriques circummicellaires est soutirée par le liquide intérieur et

ainsi, l'atmosphère micellaire se détruit sans cesse à la périphérie. D'autre part, elle se reconstitue sans cesse aux dépens de l'eau ambiante empruntée aux micelles plus profondes et encore pourvues de leur enveloppe aqueuse plus complète ; ou bien encore, elle se reconstitue aux dépens de l'eau de capillarité voisine. Et cet équilibre, perpétuellement rompu et rétabli, fait comprendre le cheminement endosmotique ; on voit que celui-ci doit se continuer jusqu'à ce que l'attraction du liquide intérieur pour l'eau, diminuant à mesure qu'il se dilue davantage, ne soit plus en état de l'emporter sur l'attraction des micelles pour cette même eau...

« Si elle n'est pas la réalité, cette image des phénomènes en résume au moins les traits principaux, et particulièrement ces deux-ci qui sont les plus importants à savoir : 1° que le jeu des forces capillaires ne suffit pas à l'explication de l'osmose ; et 2° que l'affinité d'un des liquides qui traversent la cloison pour la substance même de cette cloison, y remplit un rôle. » (Dastre, loc. cit.).

Cloisons artificielles hémiperméables. — Ce qui fait l'intérêt de ces cloisons, appelées aussi *membranes de précipité*, c'est que, pour beaucoup de physiologistes, leur emploi n'est pas seulement un artifice expérimental, sans réalité dans le monde naturel, et uniquement destiné à simplifier le problème physique ; c'est une reproduction exacte du phénomène biologique.

On sait que ces membranes hémiperméables artificielles ont été découvertes par Traube en 1865 (1). On les obtient en mettant en contact une solution de sulfate de cuivre avec du ferrocyanure de K. Pour que ces membranes se forment, il faut deux conditions : 1° que le précipité soit amorphe ; 2° qu'il soit imperméable aux substances dissoutes. Cependant cette dernière condition n'est pas absolue, car la plupart des membranes de précipité sont susceptibles d'épaississement si on les laisse en contact des corps qui les ont engendrées. Cet épaississement n'est possible que si les particules des deux composants peuvent venir au contact dans l'épais-

(1) Traube (Centralbl. für Medizin. Wissenschaft, 1865). — Experimente zur Theorie der Zellenbildung und Endosmose (Arch. für Anatomie u. physiol. 1867). — Botan. Zeitung, 1875, p. 56.

seur même de la membrane. Celle-ci est donc pénétrable aux deux substances membranogènes ; et l'épaississement de la membrane est, dans ce cas, un exemple d'*accroissement par intus susception*. Ce qu'il importe surtout de retenir, c'est que ces *membranes de précipité* sont assez compactes pour s'opposer au passage d'un grand nombre de corps dissous ; et tandis que les membranes ordinaires (sur lesquelles opérait Dutrochet), permettent le passage d'un grand nombre de corps (dits cristalloïdes), les membranes de précipité s'opposent, au contraire, à la diosmose de la plupart des corps, qu'ils soient cristalloïdes ou colloïdes.

Théories émises sur la constitution des membranes de précipité et sur les phénomènes osmotiques dont elles sont le siège. — Les membranes de précipité, comme les membranes animales et la matière organique, en général, participeraient de la constitution des substances colloïdes. Comme celles-ci, elles peuvent absorber de l'eau et la fixer. Les corps qui constituent ces membranes seraient formés de petites masses qui retiennent de l'eau : c'est ce que Naegeli appelait des *micelles* et ce que Pfeffer appelle des *Tagmas*.

Nous avons vu que les membranes de précipité permettent le passage de l'eau et de l'eau seulement. « Ce cheminement de l'eau peut se concevoir de deux manières, par deux voies : l'une qui côtoie les tagmas, l'autre qui les pénètre. Dans le premier cas, l'eau passera par les intervalles qui sépare les tagmas et suivra la voie *amphitagmatique* ; l'eau suit les canaux que laissent entre eux les tagmas : c'est l'*osmose capillaire*.

Dans le second cas, l'eau pénètre les tagmas ; elle suit la voie *diatagmatique*. Ce processus pourrait s'imaginer de la façon suivante : une solution saline, par exemple, baignant la *face interne* de la membrane, serait plus avide d'eau que le tagma lui-même et soutirerait une partie de son eau. A son tour, le tagma, qui tendrait à se reconstituer, attirerait à lui l'eau libre qui baigne le côté extérieur de la membrane. On conçoit que ce transit diatagmatique met en jeu les forces moléculaires qui s'exercent à l'intérieur de ces agrégats ; et l'osmose qui suit cette voie mérite le nom d'*osmose moléculaire*. Il est probable que chez les membranes de précipité,

les canaux compris dans l'interstice des tagmas, sont peu nombreux et étroits ; l'*osmose capillaire*, c'est-à-dire par voie amphitagmatique est nulle ou peu importante ; l'*osmose moléculaire* entre seule ou presque seule en jeu. C'est pourquoi ces membranes de précipité ne permettent qu'une filtration lente et s'opposent au passage des solutions de sels et de cristalloïdes en général. Au contraire, avec les membranes ordinaires, chez lesquelles la filtration est rapide, et la diosmose des solutions salines facile, l'*osmose capillaire* doit jouer un rôle aussi considérable que l'*osmose moléculaire*.

Restrictions à l'hémiperméabilité des membranes de précipité. L'hémiperméabilité des membranes de précipité n'est pas absolue. Ces cloisons ne possèdent qu'une hémiperméabilité *relative*.

Pfeffer s'est assuré que la membrane de ferrocyanure de cuivre laisse passer une solution d'eau sucrée à 10 p. 100 et au-dessus. Chose curieuse, une solution d'eau sucrée à 5 p. 100 et au-dessous ne passe pas. Il résulterait de là que la pénétration de la solution sucrée à travers la membrane se ferait d'autant mieux que la concentration serait élevée.

En 1892, Tammann, en opérant sur une membrane de ferrocyanure de cuivre, déposée sur la lame de parchemin d'un dialyseur ordinaire, constata que l'azotate de potassium, le sulfate de sodium, le sulfate de potassium et le sel de seignette traversent la membrane. Ce même auteur constata également que quelques membranes de précipité étaient perméables à certaines matières colorantes. « Le phénomène du passage de ces matières colorantes se produit en deux temps, le colorant imprègne la membrane et s'y dépose au moment même de sa formation ; il s'y dissout en quelque sorte, s'y fixe. Ce n'est déjà plus la membrane pure de ferrocyanure ; c'est une membrane modifiée par le colorant et rendue ainsi perméable à la solution de ce colorant. Cette perméabilité se manifeste dans le second temps de l'opération : c'est elle que Tammann a observée. » (Dastre, loc. cit., p. 507).

Meerburg constate que les membranes de ferrocyanure qui se montrent d'abord imperméables à certains colorants (chlorure de fuchsine), finissent par absorber le corps colo-

rant et deviennent alors, mais alors seulement, perméables. Ce fait, remarque le professeur Dastre, est important au point de vue théorique.

Enfin Walden⁽¹⁾ arrive aux conclusions suivantes. Les membranes de précipité sont perméables à un grand nombre de corps. « La membrane de ferrocyanure est traversée par les acides succinique, tartrique, citrique et isobutyrique, tandis qu'elle ne l'est point par les sels de potasse de ces acides. Elle est sensiblement perméable aux chlorures, bromures, nitrates de potassium, ammonium, sodium, lithium et baryum, aux chlorure et bromure de strontium. Elle est imperméable ou très peu perméable aux sulfates.

« En général, les membranes de précipité sont traversables par tous les acides, puis par les sels d'acides monobasiques ; plus difficilement par les sels d'acides polybasiques. Il n'y a pas de distinction absolue entre les corps organiques et inorganiques, entre ceux qui sont dissociables par l'électricité (électrolytes) et ceux qui ne le sont pas (non électrolytes). Il y a beaucoup de cas où, de deux sels ayant le même poids atomique, ou le même nombre d'atomes dans leur molécule, l'un passe à travers la membrane, tandis que l'autre est arrêté. (Dastre, loc. cit.).

Hypothèses sur la perméabilité relative des membranes de précipité. Théorie du crible. — Pour expliquer la perméabilité relative de ces membranes, Traube assimilait la membrane artificielle à un *crible* ayant des pores plus ou moins grands, et qui laisserait passer les petites molécules en arrêtant les molécules plus grosses. C'est une hypothèse purement mécanique qui ne résiste pas à l'analyse des faits. S'il est vrai que les cellules du rein arrêtent les grosses molécules de sucre et d'albumine et laissent passer les petites molécules de sels, il est non moins vrai que l'ectoplasma des globules rouges livre passage à des grosses molécules comme celles de l'urée, alors qu'il s'oppose au passage des sels de soude du plasma sanguin.

Une intéressante expérience de Tammann montre à quel point la théorie de Traube est en désaccord avec les faits :

(1) Walden. Ueber die Diffusionserscheinungen an Niederschlagsmembranen (Zeitschrift für Physik. Chemie. X 1892, p. 255-264).

en étudiant la diffusion de dix-sept corps colorants à travers trois membranes différentes, il constata que l'une d'elles (en ferrocyanure de cuivre), n'en laissait passer que quatre alors que la seconde en laissait passer onze et la dernière sept. Il était donc à supposer, d'après la théorie mécanique de Traube, que les pores de la première membrane étaient plus petits que ceux des autres, et que, par conséquent, tous les corps arrêtés par les deux dernières devaient, *a fortiori*, être arrêtés par elle. Or, il n'en n'est rien. Elle laisse passer des chlorures de fuchsine, de fuchsine-diamant, et de ponceau 3 R, alors que ces substances sont arrêtées par les deux dernières membranes.

D'autre part, nous avons vu que, d'après Dutrochet et Pfeffer, les substances qui traversent les membranes entrent dans les agrégats moléculaires de ces membranes. Elles se dissolvent, d'après ces auteurs, dans la matière même de ces dernières. « L'osmose ne dépend donc pas seulement de la grosseur des molécules du corps diosmosant. Elle dépend encore des forces qui s'exercent entre celles-ci, celles de la membrane, et celles de l'eau » (loc. cit., p. 509).

Ostwald a donné une autre forme à la théorie du « *tamis* » soutenue par Traube ; il suppose que ce sont les *ions*, c'est-à-dire les éléments dissociés de la molécule qui traversent la membrane semi-perméable. Mais Tammann (1) a montré qu'il ne suffit pas que les ions isolés soient capables de traverser la membrane pour que le corps traverse ; et Walden a vérifié que c'est bien le *sel* lui-même qui diosmose à travers la membrane.

Théorie de la solubilité. — C'était la conception même de Dutrochet. Nous avons vu (page 30), qu'il considérait la membrane osmotique comme un troisième liquide interposé aux deux autres et dans lequel ceux-ci (ou l'un d'eux), peuvent se dissoudre, se diffuser, ou avec lequel ils peuvent s'unir. C'est cette conception qui, plus tard, a été étendue aux membranes semiperméables. Ces dernières laisseraient passer une substance à la condition de la dissoudre.

Pour ce qui concerne le passage de l'eau, certains auteurs,

(1) Tammann Zeitschrift. für Physik. Chem. X. 1892, p. 255.

après Graham et Dubrunfaut, ont rapproché son mouvement à travers les membranes semiperméables de la diffusion à travers une couche liquide — c'est l'hydrodiffusion. « Cependant, fait remarquer le professeur Dastre, le rapprochement n'est pas tout à fait exact. Si l'on peut considérer la membrane humectée d'eau comme une troisième couche interposée, dans l'osmomètre, à l'eau pure d'une part et à la solution saline de l'autre, il n'est pas vrai que cette couche se comporte absolument comme un liquide indifférent et qu'elle soit le théâtre de phénomènes de simple diffusion. Son rôle est plus complexe, chimique peut-être, comme l'admettait Dutrochet. Il fait intervenir, en tout cas, des actions moléculaires. Les forces qui produisent la diffusion, les circonstances du mouvement, sa vitesse, différencient d'ailleurs le phénomène d'osmose de celui de la diffusion. » (Dastre, loc. cit.).

Théorie de la vaporisation. — Elle a été exprimée par Nernst. « La membrane de précipité est un corps colloïdal imbibé d'eau ; quelle que soit la manière dont cette eau est fixée, elle peut s'échapper par évaporation. La tension de vapeur qu'elle est capable d'émettre va régler ses échanges avec les milieux en contact. On admet que la *tension de vapeur qu'émet l'eau unie à la membrane, est très voisine de la tension de vapeur de l'eau pure*, dans les mêmes conditions. Au contraire, les corps en solution diminuant la tension de vapeur émise, la force élastique sera moindre du côté de la membrane osmométrique où se trouve le sel dissous. Il y aura donc passage de ce côté, distillation, mouvement d'eau vaporisée. Ce mouvement se continuera jusqu'à ce que la tension de la vapeur soit la même des deux côtés » (loc. cit.).

Résultats des mesures osmométriques directes. — Lois de l'osmose. — *Influence de la concentration.* — Pfeffer détermina la pression osmotique correspondant à des concentrations diverses d'une même substance, et en opérant avec la même membrane. Ses recherches portèrent successivement sur des solutions de saccharose, de gomme arabique et enfin sur des solutions de salpêtre à diverses concentrations.

Il résulte de ses expériences que, en ce qui concerne le sucre, on aperçoit nettement la proportionnalité de la pression osmotique à la concentration. En ce qui concerne la gomme arabique, la proportionnalité existe encore dans la plupart des cas ; mais pour le salpêtre, cette proportionnalité n'existe que d'une manière approximative.

Influence de la température. — Pfeffer constata que la pression osmotique varie avec la *température*, et croît avec elle. Mais si Pfeffer constata le fait, la loi qui le régit lui échappa, et ce fut Vant'Hoff qui montra que la pression osmotique était liée à la température par la même relation que la pression gazeuse, et que la loi de Gay-Lussac et Regnault, c'est-à-dire la loi du binôme de dilatation s'y appliquait.

Lois de l'osmose. — Des recherches de Pfeffer et de Vant'Hoff on peut donc déduire les deux lois suivantes :

1° *Loi des concentrations* : La pression osmotique varie, pour une même substance, proportionnellement à la concentration.

2° *Loi des températures* : La pression osmotique d'une solution donnée varie proportionnellement au binôme de dilatation $(1 + at)$ α étant le coefficient de dilatation des gaz $\frac{1}{273}$.

A ces deux lois, on pourrait en ajouter une troisième découverte par Pfeffer :

La pression osmotique est indépendante de la membrane, de sa nature, de son épaisseur, à la condition que cette membrane soit réellement hémiperméable. « Une membrane hémiperméable, quelle qu'elle soit, peut donc servir, aussi bien que toute autre membrane hémiperméable, à la mesure de la force osmotique d'une solution. » (Dastre).

Lois des concentrations moléculaires (de Vries). — Mais les lois que nous venons d'énumérer ne sont pas les seules qui régissent les phénomènes osmotiques.

En 1885, de Vries étudia, sur les cellules végétales, un phénomène auquel il donna le nom de *plasmolyse* et sur lequel nous reviendrons dans le chapitre suivant. Il se servit de ce

phénomène pour comparer l'action d'un très grand nombre de corps en solution, et parvint, de cette façon, à établir *la loi des concentrations moléculaires* ; celle-ci peut s'énoncer en ces termes : *toute molécule, QUELLE QU'ELLE SOIT, exerce en dissolution la même pression osmotique.*

Toutefois, cette loi n'est vraie que pour les substances organiques et un petit nombre de sels minéraux. Les sels minéraux, soumis à l'électrolyse, ne rentrent dans la règle que sous certaines conditions. Les molécules de ces corps ne s'équivalent pas entre elles : il faut distinguer ici les solutions concentrées et les solutions étendues. Les premières semblent échapper à toute règle ; les secondes, les solutions étendues, obéissent à une loi très simple, mise en lumière par de Vries : *la loi des coefficients isotoniques.*

Lois du coefficient isotonique. — Les expériences plasmolytiques de de Vries lui montrèrent que toutes les solutions d'électrolytes semblaient exercer une pression osmotique supérieure à celle qu'elles auraient dû exercer si elles avaient suivi rigoureusement la loi des concentrations moléculaires. Lors donc, que l'on a calculé la pression osmotique théorique qui devrait se manifester selon la loi des concentrations moléculaires, il faut multiplier le chiffre qui indique cette pression théorique, par un chiffre qui varie avec certains groupes de sels minéraux, mais qui est constant pour tous les sels appartenant à un même groupe ; ce chiffre par lequel il faut multiplier la pression osmotique théorique, est *le coefficient isotonique.*

Signification du coefficient isotonique. — **Hypothèse d'Arrhénius.** — Quelle est la signification de ce coefficient isotonique ? Nous savons que les corps qui échappent à la loi des concentrations moléculaires sont précisément ceux qui subissent la décomposition électrolytique. Ces corps se séparent en groupes qui s'isolent aux électrodes et que l'on appelle des *ions*. « Cette séparation que l'on croyait être l'effet du passage du courant, S. Arrhénius a émis l'hypothèse qu'elle en était la cause et qu'elle préexistait à l'action électrique. Les molécules seraient, dans les solutions, naturellement dissociées en *ions*. Dans les solutions de concen-

tration moyenne, il y en aurait en plus ou moins grand nombre de dissociées, à côté d'un certain nombre qui sont intactes. A mesure que la dilution augmente, la dissociation augmente aussi : pour une dilution suffisante, la dissociation serait complète... Pour les solutions extrêmement étendues, le nombre des *ions* serait donc dans un rapport simple avec celui des molécules primitives du corps dissous, puisque chacune de celles-ci fournit un nombre d'ions déterminé. » (Dastre, loc. cit.). Soit, par exemple, une solution de NaCl contenant le poids moléculaire, 58 gr. 35 dans 1.000 litres d'eau. Cette solution pourra être considérée comme entièrement dissociée ; chaque molécule aura fourni deux ions : un ion Na et un ion Cl . La pression d'une telle solution devrait donc être le double de ce qu'elle serait, si les ions n'étaient pas dissociés : c'est ce qu'a vérifié Arrhénius.

D'une façon générale, si on mesure la quantité de molécules qui, dans une solution donnée, se sont dissociées, on constate que la pression osmotique répond réellement à la somme des molécules non dissociées et des ions provenant des molécules dissociées. « La loi de Van't Hoff reprend donc un caractère de généralité. *La molécule du corps dissous se comporte toujours, par rapport à la pression osmotique, comme la molécule du gaz, par rapport à la pression gazeuse. Chaque molécule du corps dissous intervient pour la même part dans la production de la pression osmotique. Il suffit d'entendre, par molécule, aussi bien la molécule électrolytique ou ion, que la molécule chimique.* » (Dastre).

Nous allons pouvoir comprendre maintenant d'une façon plus précise, ce qu'est le coefficient isotonique.

Supposons une solution saline contenant K molécules, toutes *non dissociées*, et soit e l'effet osmotique exercé par chaque molécule, la pression π , pression qui devrait alors se confondre avec la pression théorique, sera de $\pi = Ke$. Supposons que cette solution soit diluée, que, par conséquent, un certain nombre de molécules soient dissociées, et représentons par K' la somme des molécules non dissociées, augmentées des ions provenant des molécules dissociées ; chaque molécule ou ion exerçant toujours l'effet osmotique e nous aurons :

$\pi' = K'e$; et nous pouvons écrire

$$\frac{\pi'}{\pi} = \frac{K'e}{Ke} = \frac{\pi'}{\pi} \cdot \frac{K}{K}$$

« Le rapport , c'est-à-dire le *coefficient de correction*, représente donc le rapport du nombre réel de molécules présentes (tant *intactes* que *ions*), au nombre de molécules qu'il y aurait dans le même volume, si la dissociation n'avait pas lieu » (loc. cit.).

Nous pouvons maintenant comprendre la forme définitive que l'on peut donner aux lois de l'osmose en s'appuyant sur les hypothèses de Vant'Hoff et d'Arrhénius.

Hypothèse de Vant'Hoff et forme définitive des lois de l'osmose. — Nous avons vu (page 38) que Vant'Hoff, le premier, avait mis en évidence le fait que la pression osmotique était liée à la température, par la même relation que la pression gazeuse, et que la loi de Gay-Lussac et Regnault (c'est-à-dire la loi du binôme de dilatation), s'y appliquait. Mais Vant'Hoff alla plus loin encore. Remarquant que la loi des concentrations moléculaires n'était, en somme, que l'expression du principe d'Avogadro, et que la loi des concentrations pondérales pouvait être comparée à la loi de Mariotte, Vant'Hoff « transforma ces analogies si fortes en assimilation complète, et il admet que la substance dissoute existe dans l'eau à l'état de gaz ou de vapeur et que ses propriétés sont réellement celles d'un gaz ou d'une vapeur ». (Dastre, loc. cit.). Vant'Hoff a formulé ainsi son hypothèse : *La pression osmotique d'une solution a la même valeur qu'exercerait la substance dissoute, si, à la température de l'expérience, elle était gazeuse et occupait un volume égal à celui de la solution.*

Ceci admis, les lois, de l'osmose peuvent, en résumé, s'énoncer ainsi :

1° *Loi de Mariotte.* — Pour une même masse de molécules dissoutes, la pression osmotique est en raison inverse du volume de solution dans lequel cette masse est étendue, c'est-à-dire proportionnelle à la concentration.

2° *Loi de Gay-Lussac.* — Pour une même masse de molécules dissoutes, la pression osmotique croît proportionnelle-

ment au binôme de dilatation $(1 + \alpha t)$, ou à la température absolue T .

3° *Loi d'Avogadro*. — La pression osmotique est la même quelle que soit la matière dissoute, quand le nombre de molécules dissoutes dans un même espace est le même.

Chaque molécule dissoute exerce, en solution, la même pression osmotique, quelle que soit sa substance.

4° *Loi de Van't Hoff*. — La pression osmotique est indépendante de la nature du dissolvant, comme de la nature de la substance dissoute.

Nous verrons, après l'exposé de nos recherches, que les variations de poids subies par le tissu musculaire et le tissu nerveux immergés dans certaines solutions salines, échappent à ces lois. Mais avant de terminer ce premier chapitre sur les lois de l'osmose, nous devons parler des intéressantes recherches de P. Girard, touchant l'influence d'un nouveau facteur sur les phénomènes osmotiques, c'est à savoir : *l'état électrostatique de la membrane*.

Influence de l'état électrostatique de la membrane. En 1912, P. Girard fit paraître, dans les « *Publications de la société de chimie physique* », une intéressante étude sur « *la pression osmotique et le mécanisme de l'osmose* ». L'intérêt de cette publication réside en ce que l'auteur fait intervenir dans certains processus osmotiques, le nouveau facteur dont nous venons de parler : *l'état électrostatique de la membrane*.

Notons d'abord que pour P. Girard, le phénomène de l'osmose est un phénomène purement physique. « La membrane joue-t-elle un rôle ? L'affirmation n'est pas douteuse. On a coutume de dire, et avec juste raison, que la pression osmotique ne dépend point de la membrane. Peu importe que celle-ci soit en ferrocyanure de cuivre, de zinc ou de nickel, qu'elle ait pour support la paroi d'un vase de pile, une feuille de gélatine, un tissu animal ou bien une lamie de collodion, la pression osmotique, à condition que la membrane utilisée soit vraiment hémiperméable, est une constante physique pour une concentration moléculaire et une température données. Mais il n'en est pas moins vrai que la membrane conditionne le flux endosmotique. Sans elle, point d'osmose. La hauteur d'ascension dans le tube osmo-

métrique, l'équilibre final qui mesure la pression osmotique n'en dépend point ; mais la rupture de l'équilibre initial entre les deux liqueurs que cette membrane sépare en dépend, ou, plus exactement, cette rupture d'équilibre dépend des forces physiques (force capillaire, force d'adhésion), dont la structure de cette membrane permet précisément l'entrée en jeu » (l. cit., p. 9).

Cependant, certaines expériences faites sur des tissus vivants amenèrent la constatation de faits nouveaux et, au premier abord, en opposition avec les lois générales de l'osmose. Heidenhain introduisant dans une anse intestinale liée aux deux bouts, des solutions salines de concentrations variées, remarqua que dans certaines régions de l'intestin, la solution fortement hypertonique au sérum n'en filtrait pas moins dans les vaisseaux qui entouraient l'intestin, alors que dans d'autres régions, des solutions hypotoniques au sérum ne passaient pas. D'autre part, Loeb, expérimentant sur le changement de volume des muscles immergés dans des solutions salines iso, hypo et hypertoniques, constata également des faits qui semblent montrer que « dans les organismes vivants, les seules différences de pressions osmotiques ne suffisent pas à rendre compte du sens de la valeur des échanges » (p. 12). D'ailleurs, fait remarquer P. Girard, Dutrochet avait, dès ses premières recherches, observé des « *osmoses négatives* » se dessinant de la solution vers l'eau lorsqu'il séparait par des septums inertes, de l'eau pure d'avec les solutions diluées d'acides forts. Graham, 25 ans plus tard, fit des observations analogues. Enfin, P. Girard observa « qu'avec des septums en gélatine, en parchemin, en vessie de porc desséchée, dégraissée à l'éther ou à l'alcool chaud, puis longuement lavée, de telles osmoses s'obtenaient, à coup sûr, lorsqu'étaient réalisées, dans le système constitué par les deux liqueurs en présence et le septum qui les sépare, un ensemble de conditions électrostatiques que nous allons maintenant brièvement définir...

« Quelle que soit la substance du septum, il possède toujours une structure ; figurons-la schématiquement par un assemblage de tubes capillaires ; dans ces conditions, si dans la solution qui baigne l'une de ses faces, se trouve un excès, fût-il très léger d'ions H^+ ou d'ions OH^- (correspon-

dant à une acidité ou à une alcalinité même inférieure au millième normal), les parois de tubes capillaires se chargent d'un certain signe électrique, précisément du signe des ions en excès. C'est que, en effet, le coefficient d'absorption d'une paroi pour les différents ions est très variable. Les recherches de M. Jean Perrin ont mis en lumière cette différence. Alors que l'efficacité, au point de vue de l'électrisation de la paroi par contact, des ions des sels neutres est peu sensible, sauf dans les cas de grandes concentrations, celle des ions H^+ et OH^- est tout à fait prépondérante. Quant aux ions polyvalents des deux signes, ils interviennent surtout, comme l'a montré M. Jean Perrin, en neutralisant l'action des ions monovalents actifs et de signe contraire.

Supposons donc les parois des tubes capillaires chargées du signe des ions actifs que la solution recèle ; les veines liquides qui les remplissent se chargeront d'un signe contraire à celui de la paroi ; une couche double d'Helmholz naîtra. Or, on conçoit très bien que le champ électrostatique, correspondant à la différence de potentiel des deux liqueurs que le septum sépare et dont l'orientation est tangentielle aux axes des tubes capillaires, puisse amener le glissement de ces veines ; le sens de l'endosmose, ainsi déterminé, dépendra exclusivement des deux facteurs électrostatiques : le signe de la veine liquide, et l'orientation du champ actif... « A la vérité, ce champ actif n'est pas constitué par la seule différence de potentiel du couple liquide cloisonné ; au contact des solutions légèrement alcalines ou légèrement acides, la membrane se polarise, elle devient elle-même le siège d'une différence de potentiel correspondant à l'accumulation sur l'une et l'autre de ses faces, de charges électriques d'égale densité et de signe contraire... » Il s'ensuit que dans une expérience d'osmose, le contact sur l'une de ses faces d'une solution d'un électrolyte, dont la neutralité n'est pas stricte, polarise la membrane, et que le champ dont elle est ainsi le siège vient s'ajouter algébriquement (c'est-à-dire en tenant compte du signe qui définit son orientation), au champ du couple liquide que la membrane cloisonne. C'est la somme algébrique de ces deux champs qui compose le champ actif dont dépend, le long des capillaires du septum, le glissement des veines liquides, chargées d'un signe électrique déterminé. »

Nous verrons plus loin (chapitre III), que des expériences ultérieures de P. Girard l'amènèrent à faire des observations fort intéressantes sur l'importance du rôle joué par l'état électrostatique de la paroi des globules rouges dans les variations de volume de ces derniers.

En résumé, nous avons vu dans le cours de ce premier chapitre, que les membranes de précipité avaient été assimilées par certains auteurs aux membranes dont ils supposent l'existence autour des cellules vivantes. Pour P. Girard, comme pour ces auteurs, *la nature* de la membrane serait sans importance dans l'exercice de la pression osmotique, et cette dernière, « à la condition que la membrane utilisée soit vraiment hémiperméable », serait une constante physique pour une concentration moléculaire et une température données. Il s'ensuit que si on étendait ces conclusions aux éléments cellulaires, la perméabilité de ces derniers serait, en définitive, conditionnée par un phénomène d'osmose et que la cellule vivante pourrait être, alors, considérée comme *un système osmotique susceptible de se gonfler*. C'est le titre même du magistral chapitre qu'écrivit Overton dans le manuel de physiologie de Nagel, et auquel nous allons emprunter le chapitre suivant.

CHAPITRE II

A. La cellule vivante considérée comme système osmotique susceptible de se gonfler.

B. Théorie lipoïde. (OVERTON)¹.

α Cellules végétales

Rôle du protoplasma dans les phénomènes osmotiques.
— *Premières conclusions de Naegeli, Hofmeister, Pfeffer et de Vries.* — Ces auteurs croient d'abord à l'imperméabilité de la cellule aux substances dissoutes.

C'est en 1855, que Naegeli fonda les éléments de la biologie cellulaire. Dans un ouvrage intitulé « *Recherches de physiologie végétale* » (2), cet auteur énonce les deux opinions suivantes :

1° C'est que les propriétés osmotiques de la cellule végétale ne sont pas conditionnées uniquement par la membrane cellulosique (membrane à laquelle Naegeli donne le nom de *membrane cellulaire*) ; mais que le protoplasma lui-même joue un rôle au moins aussi important que cette dernière ; et

2° Que les propriétés osmotiques du protoplasma sont des propriétés *vitales* liées à la vie de la substance protoplasmique et disparaissant à la mort de la cellule.

Naegeli constata, en effet, que tant que la cellule est vivante, les matières colorantes dissoutes dans le suc cellulaire ne pénètrent pas dans le protoplasma, pas plus qu'elles ne sortent hors de la cellule, quand on l'immerge dans l'eau.

(1) Overton : Nagel's Handbuch der physiologie des Menschen 1907. Tome II, chapitre 2.

(2) Karl Naegeli et Karl Cremer. Pflanzen Physiologische Untersuchungen. Tome I. Zurich 1855.

Mais dès que la cellule est morte, la sortie des matières colorantes dans le protoplasma et hors de la cellule a lieu.

D'autre part, Naegeli observa que pendant la vie, le protoplasma des cellules de *Spirogyra* est fixé contre la membrane cellulaire (cellulosique) ; mais dès que la cellule meurt, le protoplasma se décolle de la membrane cellulosique qui s'affaisse.

Naegeli constata l'imperméabilité du protoplasma vivant, à certaines substances, mais pas à toutes. Si on met une cellule vivante en contact avec une solution sucrée ou une solution de NaCl de concentration élevée, on voit que le protoplasma se décolle de la membrane cellulosique et qu'un liquide s'interpose entre le protoplasma et la membrane. Or, lorsqu'on opère sur des cellules qui ont été colorées (cellules épidermiques des feuilles, par exemple), on constate qu'à mesure que du liquide s'interpose entre le protoplasma et la membrane cellulosique, la coloration du protoplasma devient plus intense. Ce liquide n'est donc autre chose que de l'eau provenant de la substance protoplasmique.

Si après avoir subi ce décollement protoplasmique, la cellule est remise au contact d'une solution de faible concentration ou au contact d'eau pure, elle revient à l'état normal, et le protoplasma s'applique de nouveau sur la membrane cellulosique. De Vries donna au décollement du protoplasma le nom de « *plasmolyse* » et étudia longuement les conditions dans lesquelles ce phénomène se produisait ; mais c'est Naegeli qui affirma le premier qu'une solution de concentration juste suffisante pour provoquer le retrait du protoplasma, devait être considérée comme isotonique au suc cellulaire.

Quelques années plus tard, Hofmeister (1) confirma les travaux de Naegeli. Il fit observer que lorsqu'on immerge des fruits dans de l'eau, cette dernière ne devient pas sucrée ; le sucre ne diffuse donc pas hors des cellules végétales vivantes. Lorsqu'en effet, on constate que du sucre a passé dans l'eau, le microscope révèle toujours la mort des cellules ou, tout au moins, l'altération des membranes cellulaires.

Voici les conclusions formulées par Hofmeister :

(1) Hofmeister, *Lehre von der Pflanzenzelle* 1867.

1° Le protoplasma oppose une grande résistance au passage des substances dissoutes dans l'eau. Mis au contact de solutions aqueuses, le protoplasma ne laisse passer dans les deux sens que de l'eau. Sa résistance au passage des matières dissoutes s'est montrée, dans toutes les expériences, plus grande que la résistance offerte par la membrane cellulosique (1).

2° La propriété que possède le protoplasma de s'opposer à l'entrée des substances dissoutes dans l'eau, ne se maintient que tant que la cellule est vivante et non altérée. Cette propriété est suspendue par tous les facteurs qui détruisent ou entravent, d'une façon quelconque, « les processus végétatifs ». C'est ce qui arrive quand des cellules sont soumises pendant un certain temps, à des conditions anormales : par exemple, quand elles sont immergées dans une solution sucrée, ou dans de l'eau à température trop basse ou trop élevée ; ou quand elles sont altérées par l'action de poisons, par déchirure ou par broiement. Le protoplasma se comporte alors comme tous les corps poreux non organisés, il prend les matières colorantes, et les laisse diffuser au dehors.

La membrane protoplasmique et son rôle osmotique d'après Pfeffer. — Pour Naegeli, les propriétés du protoplasma qu'il avait découvertes étaient des propriétés *osmotiques* qui appartenaient à la *totalité* de la masse protoplasmique. Mais, plus tard, Pfeffer reprit la question avec plus de précision et soutint que les curieuses propriétés découvertes par Naegeli n'étaient dévolues qu'aux seules couches limitantes du protoplasma : c'est-à-dire, d'une part, à la couche limitante extérieure qui, dans les conditions normales, tapisse la membrane cellulosique, — et, d'autre part, à la zone la plus interne du protoplasma qui enferme le suc cellulaire, ainsi qu'aux couches protoplasmiques qui limitent les vacuoles. Pfeffer donna à la couche limitante externe le nom de membrane plasmique ; et il appela *membranes vacuolaires*, les couches limitantes du suc cellulaire et des vacuoles.

(1) Overton fait observer que cela n'est pas vrai pour de nombreuses combinaisons organiques solubles dans l'éther.

En somme, pour pénétrer jusqu'au sein du suc cellulaire, une solution mise en contact avec la cellule végétale devrait traverser les zones suivantes : 1° la membrane cellulaire proprement dite (membrane cellulosique) ; 2° la membrane plasmique, appliquée contre la précédente : 3° la masse du protoplasma ; et enfin, 4° la membrane vacuolaire qui limite le suc cellulaire.

Mais ces différentes zones offriraient des résistances très inégales aux éléments dissous dans la solution. La membrane de cellulose n'offre que peu de résistance aux cristalloïdes ; la masse protoplasmique comprise entre les membranes plasmique (externe) et vacuolaire (interne), ne serait, elle aussi, qu'un faible obstacle à la diffusion des matières dissoutes. Ces dernières, d'après Pfeffer, pénétreraient la masse protoplasmique comme une gelée de gélatine. Ce sont les couches limitantes seules qui régleraient *qualitativement* et *quantitativement* le transit des matières contenues dans la solution. D'après le schéma de Pfeffer, les substances dissoutes, lorsqu'elles sont parvenues à traverser les couches limitantes interne ou externe, doivent être transportées à travers toute la substance cellulaire, grâce aux courants protoplasmiques. Mais Overton fait observer que cet argument n'a pas de valeur pour les cellules animales qui ne présentent pas, ou du moins, qui ne présentent que rarement des courants protoplasmiques.

Valeur morphologique des membranes limitantes du protoplasma. — Quelle serait maintenant la *valeur morphologique* des membranes plasmiques externe et vacuolaires ?

Pour Pfeffer, les membranes protoplasmiques peuvent provenir directement du protoplasma par simple différenciation. Mais telle n'est pas l'opinion de de Vries. Pour cet auteur, les membranes plasmique externe et vacuolaires sont des organes différenciés ne pouvant provenir que d'une membrane semblable ayant subi une segmentation. De Vries émet cette manière de voir en se fondant sur des analogies. Schmitz et Schimper, en effet, avaient montré que les chromatophores (chloroplastes, chromoblastes) ne pouvaient se multiplier que par segmentation et non, comme on le croyait, par simple différenciation de la substance cytoplasmique.

Enfin, pour montrer l'indépendance des membranes vacuolaires, de Vries fait l'expérience suivante : il traite (1) une cellule par une solution d'azotate de potasse à 10 p. 100. Cette solution tue le protoplasma, mais laisse intacte la membrane vacuolaire, ainsi que ses propriétés osmotiques. En effet, si on colore la solution d'azotate de potasse avec de l'éosine, on constate que le protoplasma tué par l'azotate de potasse se colore, tandis que le suc vacuolaire reste incolore, ce qui serait dû, d'après de Vries, à ce qu'il serait protégé par sa membrane limitante. De Vries donne à la paroi vacuolaire le nom de *tonoplaste*.

Overton pense que souvent la vacuole peut provenir d'une vacuole mère par segmentation de cette dernière, mais il ajoute que cela ne prouve pas qu'il en soit toujours ainsi. C'est ce que semble démontrer l'expérience suivante due à Pfeffer.

Pfeffer (2) prend des plasmodies de *mixomycètes* et les immerge dans des solutions de gypse et d'asparagine contenant des cristaux de substance solide. Les plasmodies absorbent ces derniers à la manière dont les amibes absorbent les corps étrangers à leur organisme ; puis en immergeant ces plasmodies dans de l'eau pure, Pfeffer constate qu'il se forme des vacuoles autour des cristaux absorbés. Des vacuoles peuvent donc se former autrement que par segmentation de vacuoles mères. Overton croit que dans les cellules animales, des vacuoles peuvent se former d'une façon analogue à celle que Pfeffer a mise en lumière.

Ce dernier auteur fit encore l'observation suivante : ayant sectionné des prolongements protoplasmiques chez certains mixomycètes, il crut voir se former une nouvelle membrane plasmique sur la surface de section ; or, cette membrane se serait formée en partie aux dépens de la masse protoplasmique et non pas seulement par le rapprochement des bords de la plaie. Overton fait observer qu'il paraît en être de même pour le muscle. Quand on sectionne du tissu musculaire, il se formerait une membrane plasmique limitante au

(1) De Vries. Plasmolitische studien in Pringsheim's jahrbüchern XVII, 465. 1885.

(2) Pfeffer. Abhandlung d. math. phys. Klasse der Königl. Sächs. Gesellschaft. der Wissenschaften. 16, 197.

voisinage de la section ; et quand on observe l'évolution de muscles séparés de l'individu, auquel ils appartenaient, on voit que cette membrane s'étend sur toute la zone qui sépare les fibres mortes de celles qui sont encore vivantes. Du moins, ajoute Overton, les propriétés des muscles lésés ne peuvent s'expliquer que de cette façon-là.

D'après les observations de Pfeffer (1) « il suffit toujours qu'une masse protoplasmique présente une surface libre, pour qu'il puisse y avoir formation de membrane protoplasmique. D'autre part, on constate que des fragments de membrane se désagrègent dans la substance protoplasmique quand cette dernière entoure les fragments de tous les côtés. Il y aurait donc ainsi deux processus antagonistes dans le protoplasma vivant, dont l'un travaille à la formation et l'autre à la destruction de la membrane protoplasmique. On conçoit que par suite de ces deux processus dont elle est le siège, la membrane puisse avoir des limites imprécises du côté de sa face interne. C'est d'ailleurs ce que confirme l'examen microscopique ». (Overton, *loc. cit.*).

Nous avons vu (page 47), que Naegeli ne croyait qu'à une imperméabilité relative du protoplasma aux substances dissoutes ; et jusqu'aux recherches de de Vries, cette imperméabilité n'avait guère été constatée que pour les matières colorantes et le sucre de canne.

Cependant, Hofmeister et quelques autres physiologistes avaient remarqué que les sels inorganiques des plantes aquatiques y étaient contenus à une concentration supérieure à celle qu'avaient ces sels dans le milieu ambiant. Or, la vie du protoplasma nécessite la présence de sels minéraux (sulfates, nitrates, etc.), qui entrent dans la constitution des protéines cellulaires ; il parut donc légitime de penser qu'une partie des sels minéraux du protoplasma servait à édifier ces substances protéiques, puis que la concentration des sels ayant diminué à l'intérieur de la cellule, il se produisait un nouvel apport des sels minéraux par endosmose, s'effectuant du milieu extérieur vers l'intérieur de la cellule. Mais, nous le répétons, la concentration des sels minéraux intracellulaires étant supérieure à celle qu'ils ont dans le milieu

(1) Pfeffer. *Osmotische Untersuchungen*, p. 124.

extérieur, on admit que c'était la membrane protoplasmique qui s'opposait à la libre diffusion des sels, hors de la cellule (1). (Nous savons que la membrane cellulosique ne s'oppose pas à un transit de ce genre).

De son côté, de Vries (2) avait entrepris de nouvelles et laborieuses recherches sur la perméabilité des cellules végétales et s'était efforcé de saisir directement, à l'aide du microscope, le mécanisme des échanges (3), dont les cellules végétales sont le siège. Il se servit de ses recherches sur le phénomène qu'il avait décrit sous le nom de *plasmolyse* (voir page 38). Ses nombreuses observations (4) amenèrent cet auteur à penser que lorsqu'une cellule, mise en présence d'une solution, a subi la plasmolyse, et que cette dernière s'est maintenue invariable pendant 24 heures, on peut admettre que la substance dissoute ne passe pas. Or, ayant examiné le comportement des cellules végétales en présence de solutions de sels composés de métaux alcalins et alcalino-terreux, liés à des acides organiques et inorganiques, de Vries constata que, dans toutes ces expériences, il y avait plasmolyse, et que cette dernière persistait pendant 24 heures ; il en conclut que la membrane plasmique était imperméable à ces sels (5).

Recherches de Vries sur la plasmolyse. De Vries assimile la cellule végétale à un osmomètre de Pfeffer. La *membrane cellulosique*, l'analogue du vase poreux remplirait l'office d'organe de soutien ; elle est perméable à l'eau et, en général, à tous les cristalloïdes. La *membrane plasmique*, membrane limitante du corps cellulaire, qui doublerait immédiatement la membrane de cellulose, représenterait la membrane de ferrocyanure de cuivre : elle ne serait per-

(1) Overton pense que les membranes plasmiques des poissons d'eau douce et d'eau de mer doivent avoir les mêmes propriétés d'arrêt que celles des plantes aquatiques.

(2) De Vries Jahrbuch f. wissenschaftl. Botanik. Tome 14.

(3) Nous avons parlé à propos de l'osmose (chapitre 1^{er}) des conclusions qu'il en tira.

(4) De Vries, Jahrbuch fur wissenschaftl. Botanik T. XIV.

(5) Overton fait observer combien il est curieux que la *concentration limite* qui produit la plasmolyse correspond à celle d'une solution de NaCl qui contiendrait de 0,6 à 1,3 p. 100 de sel, c'est-à-dire que les solutions juste suffisantes pour provoquer la plasmolyse auraient la même pression osmotique que celle que l'on attribue au sang et aux liquides tissulaires des vertébrés.

méable qu'à l'eau. Enfin, au centre, formant une sorte de lac, se trouve le *suc cellulaire*, solution de sels, de sucre, de substances diverses.

Exceptions à l'imperméabilité de la membrane plasmique de Pfeffer. Nouvelles recherches de Naegeli et de Vries.

— Quelques années après la publication de ses premières recherches, de Vries dut constater lui-même, comme Naegeli l'avait déjà fait, que l'imperméabilité de la membrane protoplasmique aux substances dissoutes n'était pas absolue. En 1888, Klebs (1) et de Vries (2), observèrent la pénétration lente de glycérine dans les cellules d'algues, ainsi que la rétrocession de la plasmolyse, après un certain temps d'attente. Peu après, en 1889, de Vries constata la pénétration d'urée dans des cellules végétales. Pfeffer, d'ailleurs, avait déjà noté la pénétration à travers la couche superficielle des cellules de matières colorantes dissoutes dans l'ammoniaque, et *Darwin celle du carbonate d'ammonium*.

Si, maintenant, nous jetons un coup d'œil d'ensemble sur les différentes théories émises, touchant les phénomènes osmotiques, nous voyons qu'elles ont toutes un caractère commun : celui d'être incomplètes. Aucune d'elles, en effet, ne peut être appliquée à la généralité des faits observés par son propre auteur. S'agit-il *des membranes artificielles perméables*, Dutrochet croit pouvoir affirmer que le courant endosmotique (le plus fort), s'établit du liquide le moins dense vers le plus dense. Mais des expériences ultérieures du même auteur infirment ses premières conclusions : au facteur physique, la densité, qui avait tout d'abord attiré son attention, Dutrochet se voit obligé d'ajouter un correctif : c'est-à-dire l'affinité des liquides pour la membrane, correctif dont l'influence est si grande qu'elle peut inverser le sens de l'osmose (3).

S'agit-il *des membranes artificielles hémiperméables*, Traube et Pfeffer les considèrent d'abord comme uniquement perméables à l'eau ; mais des expériences ultérieures forcent les expérimentateurs à apporter des restrictions à

(1) Klebs. Untersuchungen a. d. boban. Institut zu Tubingen. Tome II, 1888.

(2) De Vries. Botan. Zeitung 1888.

(3) Voir chapitre I^{er}.

leur première opinion. Le sucre, différents sels alcalins traversent les membranes de ferrocyanures de cuivre.

S'agit-il enfin des cellules vivantes, Naegeli, Hofmeister, de Vries, Pfeffer commencent par admettre l'hémiperméabilité de ces cellules ; mais ces mêmes auteurs sont bientôt amenés à constater de nombreuses exceptions à la règle qu'ils avaient trop hâtivement formulée.

Godlewski rattache l'hémiperméabilité à la condition ordinaire du protoplasma, et la perméabilité à sa contraction : ce n'est là qu'une hypothèse. C'est le mérite d'Overton d'avoir essayé de préciser les conditions nécessaires à la pénétration des substances autres que l'eau dans les cellules vivantes. Nous allons voir maintenant sur quels faits il crut pouvoir établir la *théorie lipoïde*.

β Théorie lipoïde

Il résulte des observations d'Overton (1) que certaines substances pénètrent tellement vite dans la cellule que la pression interne de celle-ci atteint bientôt celle du liquide ambiant, alors que d'autres substances provoquent une plasmolyse qui subsiste encore après 48 heures. Entre ces deux cas extrêmes, tous les cas intermédiaires peuvent être observés.

La pression osmotique d'un mélange de solutions répond très approximativement à la somme des pressions partielles qu'exercerait chaque solution si elle était seule.

Enfin, dernière et importante remarque, *toutes les solutions qui ne sont pas des solutions salines pénètrent très rapidement dans la cellule*.

Overton résume ses recherches de la façon suivante (2) :

« 1° Toutes les combinaisons qui se dissolvent bien dans l'eau et qui se dissolvent rapidement, aussi, dans les alcools monovalents de poids moléculaire élevé, dans l'éther, le benzol, les huiles grasses, ou, du moins, toutes les combinaisons qui ne sont pas sensiblement moins solubles dans ces

(1) Overton. Vierteljahrsschrift der Naturgesellschaft in Zurich 1895, 40 : 1896, 41 ; 1899, 44. — Jahrbuch für Wissenschaftl. Botan. 34, 1900. Studien über die Narkose jena 1901.

(2) Overton. « La cellule vivante, etc. », in Nagel's Handbuch, p. 817.

différentes substances qu'elles le sont dans l'eau, pénètrent particulièrement vite dans toutes les cellules vivantes.

« 2° Plus le coefficient de partage d'une substance entre l'eau et les autres solvants (éther, alcools monovalents, etc.), est à l'avantage de l'eau, plus la substance pénètre lentement dans la cellule.

« 3° Quand la solubilité d'une substance est 50.000 fois plus grande dans l'eau que dans les solvants énumérés plus haut, on peut admettre que la substance en question ne pénètre pas dans la cellule.

« 4° Quand, pour une substance donnée, le coefficient entre $\left(\frac{\text{sa dissolution dans l'éther}}{\text{et sa dissolution dans l'eau}} \right)$

n'est pas plus petit que 0,2, et que cette substance n'entre pas dans la constitution du protoplasma, on peut dire qu'une solution de cette substance étant mise en contact avec une cellule, la pression intérieure de cette dernière devient égale à celle du milieu extérieur dans l'espace d'une minute. »

Toutes ces variations dans la perméabilité du protoplasma vis-à-vis des différentes substances ont conduit Overton à émettre la théorie suivante :

Les membranes protoplasmiques sont imprégnées de substances qui ont un pouvoir dissolvant analogue à celui des alcools à poids moléculaire élevé, de l'éther, des huiles, etc., et toutes les combinaisons solubles dans ces substances qui imprègnent la membrane, traversent rapidement cette dernière. Au contraire, les corps moins solubles dans les substances imprégnantes que dans l'eau pénètrent plus difficilement à travers la membrane et cette difficulté de pénétration est d'autant plus grande que le coefficient de partage du corps considéré entre l'eau et les substances imprégnantes est à l'avantage de l'eau. Enfin, les corps insolubles dans les substances imprégnantes ne pénètrent pas du tout dans la cellule.

Or, parmi les substances imprégnant les couches superficielles des cellules, il faut citer, en première ligne, la *lécithine* et la *cholestérine* ; d'abord, parce que ces corps font partie des constituants généraux du protoplasma, et ensuite parce qu'ils ont un pouvoir dissolvant particulier, grâce

auquel sont réalisées les conditions indispensables à la perméabilité de la membrane plasmatique.

La *lécithine* et la *cholestérine* (cette dernière seulement lorsqu'elle est amorphe), possèdent, contrairement aux huiles grasses et aux cires, un très grand pouvoir dissolvant pour les sels et les couleurs basiques d'aniline (1) ; or, on sait que c'est précisément à ces sels et à ces couleurs basiques que le protoplasma vivant se montre perméable.

La *lécithine* est également capable d'absorber une grande quantité d'eau (plus de 10 p. 100 de son poids à la température ordinaire) ; c'est ce qui expliquerait que la plupart des protoplasmas sont facilement perméables aux molécules aqueuses ; tandis que les huiles grasses et les cires n'absorbent que des traces d'eau ; ces traces sont beaucoup trop faibles pour que l'on pût s'expliquer la grande perméabilité de la cellule à ce liquide, si on devait admettre que les huiles grasses et les cires fussent les constituants essentiels de la membrane.

Cependant, il ne serait pas impossible, d'après la conception d'Overton, que les membranes de certaines cellules, difficilement perméables à l'eau, fussent imprégnées d'un mélange de substances, dont la composition s'éloignerait de celle des membranes protoplasmiques ordinaires. Ces membranes contiendraient, par exemple, moins de *lécithine*, et plus de *cholestérine* ou de cires. Il serait, d'ailleurs, peu probable que la composition chimique des substances qui imprègneraient les membranes des différents tissus répondissent à une *formule unique*, bien que, d'après Overton, les propriétés osmotiques des différentes cellules étant, en somme, très voisines, il serait à supposer que les substances imprégnantes des membranes et les proportions relatives dans lesquelles elles y sont présentes, différassent peu d'un tissu à l'autre.

Solubilité dans les lipoïdes et force narcotisante d'après Höber (2). — On sait que les narcotiques les plus connus, tels que l'alcool éthylique, l'éther, l'aldéhyde, le chloroforme,

(1) Overton. *Jahrbuch für wissenschaftl. Botanik* 34, 669-701.

(2) Loc. cit.

pénètrent facilement à l'intérieur des cellules et sont solubles dans les lipoïdes.

Hans Meyer (1) et Overton (2), ont fait observer que la force narcotisante d'une substance pouvait être mesurée par son coefficient de partage $\frac{\text{huile}}{\text{eau}}$; c'est-à-dire que plus ce coefficient de partage est élevé (donc à l'avantage de l'huile), plus la force narcotisante est considérable.

Toutefois, Höber fait observer que la concentration moléculaire d'un narcotique, au sein des lipoïdes cellulaires, n'est pas le *seul* facteur qui intervienne dans la narcosé, « *mais que chaque substance narcotisante exerce une action plus ou moins individuelle sur les cellules ; et cela selon sa constitution chimique, par conséquent selon ses affinités vis-à-vis des constituants du protoplasma* ».

Rapprochons de ces faits que, lorsque des globules sanguins sont mis en contact avec des narcotiques, leur perméabilité est accrue et on observe le phénomène de l'hémo-lyse. Höber (3) a montré qu'il se passe quelque chose d'analogue avec le tissu musculaire. Lorsque les muscles sont traités par des narcotiques à une concentration convenable, leur contractilité diminue. Höber constata qu'en élevant la concentration du narcotique, la perméabilité du muscle augmentait.

γ Cellules animales

Recherches sur les propriétés des cellules osmotiques animales. — *Globules sanguins.* C'est sur les globules du sang que furent faites les premières recherches sur les prétendues propriétés osmotiques des cellules animales. On admet, généralement, que les globules conservent leurs propriétés osmotiques tant que leur matière colorante ne se répand pas dans le milieu ambiant. Hewson, au XVIII^e siècle (4), attira l'attention sur les faits suivants : il vit que lorsqu'une goutte de sang était mise en contact avec un peu d'eau, et que l'on augmentait

(1) Hans Meyer. Arch. fur experim. Pathol. u. Pharmak 42, 109 (1899).

(2) Overton. Studien uber die Narkose jena 1901.

(3) Höber. Pflug. Arch. 120, 492, 1907.

(4) Hewson. Philosoph. Transact. p. 303-323, 1773.

progressivement la quantité d'eau, les globules changeaient de forme. Au lieu de rester aplatis, comme des galettes, ils devenaient sphériques et se gonflaient de plus en plus pour, finalement, se dissoudre.

Au contraire, lorsqu'on met des globules sanguins en contact avec n'importe quelle quantité de sérum sanguin, ils ne perdent jamais leur forme. Hewson reconnut, de plus, que c'était aux sels du sang que les globules devaient le maintien de leur forme, « Ce qui le prouve, dit cet auteur, c'est que l'addition à l'eau d'une petite quantité d'un sel minéral neutre, quel que soit ce sel, empêche le globule de se dissoudre ; et que, si le sel est ajouté dans des proportions déterminées, les globules rouges conservent leur forme primitive. Ces faits furent observés après l'addition de NaCl , NaAzO° , AzH'SO° , $\text{Mg}(\text{AzO}^{\circ})^2$ et de $\text{Ca}(\text{AzO}^{\circ})^2$. Dans les solutions *concentrées* de ces sels neutres, Hewson vit les globules se ratatiner et devenir complètement solides. L'action des acides (ac. sulfurique, citrique, chlorhydrique, phosphorique, acétique) et des alcalis (en réalité des carbonates alcalins), de même que l'action des métaux lourds est tout à fait différente, selon Hewson, de celle des sels neutres.

Les acides en solutions concentrées dissolvent les corpuscules sanguins sans les faire passer préalablement par la forme sphérique ; ce n'est que dans les solutions acides de très faible concentration, que les globules deviennent sphériques pour se dissoudre plus tard, ainsi que cela arrive quand on les immerge dans de l'eau pure.

Les carbonates de potassium et d'ammonium, en solutions fortes, corrodent les globules, tandis qu'en *solutions faibles*, ils agissent comme l'eau. Les solutions d'aluminium et des sels de cuivre agissent de même. Pour aucune de ces solutions (d'acides, de carbonates ou de métaux lourds), Hewson n'a pu trouver une concentration qui laissât les globules rouges intacts.

Dans l'urine, lorsqu'elle était riche en sels, les globules se comportaient comme dans le sérum sanguin. Une urine très diluée, exerçait, au contraire, la même action que l'eau.

Hewson conclut de ses recherches qu'une des fonctions principales des sels contenus dans le sang doit consister à maintenir la forme des globules sanguins ; et comme l'expé-

rience montre que les fortes, aussi bien que les faibles concentrations des sels neutres, modifient la forme des globules, il faut, pour que les sels du sang puissent remplir leur rôle, que le rapport de leur masse à celle de l'eau du sérum sanguin soit constant, ou du moins ne varie que dans d'étroites limites.

Avant d'aborder les travaux de Donders et de Hamburger, notons encore deux observations importantes faites bien avant les recherches de ces auteurs.

Thomas Young (1) reconnut que, quand on dilue du sang avec de l'eau, il ne se produit pas une véritable dissolution des globules, mais seulement une élimination de la matière colorante de ces derniers. Il subsiste un résidu incolore que Rollet définit plus tard sous le nom de *stroma*, et auquel Brucke donna le nom d'*oikoïde* des globules du sang.

Enfin Von Rees et Lane (2) attribuèrent le changement de forme et de volume des globules rouges immergés dans des solutions salines à des phénomènes *endosmotiques*.

Vers la fin du siècle dernier, deux biologistes, Donders et Hamburger (3) reprirent l'étude des phénomènes que Von Rees et Lane attribuaient aux propriétés osmotiques des globules sanguins.

Donders, après avoir étudié l'action de nombreuses solutions, avait établi les concentrations respectives que devaient avoir ces diverses solutions, pour que leur contact avec les globules rouges laissât ces derniers inaltérés. Ce même auteur remarqua que *les rapports entre ces différentes concentrations* étaient exactement les mêmes que les rapports qu'affectent, pour les mêmes solutions, les concentrations qui, d'après de Vries, produisaient précisément la plasmolyse des cellules végétales.

D'autre part, Hamburger détermina des concentrations auxquelles différentes solutions salines commençaient à produire une diffusion d'hémoglobine, hors des globules rouges. Si on admet que ce début de diffusion se produit dans les solutions ayant sensiblement la même pression osmotique que le sang, on peut conclure que les solutions des différents

(1) Thomas Young. *Medic. literature*, London 1813.

(2) Von Rees et Lane. *Guy's Hosp. Reports* 1841, 1843.

(3) Hamburger. Du Bois-Raymond, *Archiv*, 1886-1887.

sels qui produisent ce début de diffusion, sont isotoniques au sang. Notons d'abord qu'Hamburger, d'accord en cela avec Hewson, observa *que la diffusion de l'hémoglobine ne se faisait pas avec la même facilité dans toutes les espèces animales.*

Hamburger avait pensé pouvoir fixer la valeur respective des globules du sérum et du plasma sanguins de la façon suivante :

Le sérum ayant été séparé des autres éléments du sang, on y ajoutait une certaine quantité d'eau ; puis on notait le rapport dans lequel devait être la quantité de sérum et celle de l'eau pour qu'il s'ensuivit un début de diffusion d'hémoglobine hors des globules rouges, quand on immergeait une petite quantité de sang complet dans 10 fois son volume du mélange que l'on étudiait (mélange composé, comme il vient d'être dit, de sérum et d'eau). On fit ensuite des solutions de NaCl , de sucre de canne, de salpêtre, etc., et on détermina quelles étaient les concentrations-limites les plus élevées de ces solutions qui provoquaient un début de diffusion d'hémoglobine hors des globules. Ces solutions étant isotoniques au mélange (sérum et eau), la connaissance de leur concentration permettait de déduire la pression osmotique originelle du sérum sanguin. Ces mesures montrèrent que l'on peut ajouter à 100 volumes de sérum de sang de bœuf : 50 volumes d'eau ; à 100 volumes de sérum de poule : 130 volumes d'eau ; à 100 volumes de sérum de tanche : 110 volumes d'eau ; enfin à 100 volumes de sérum de grenouille : 235 volumes d'eau, sans que l'hémoglobine ne diffuse hors des globules ; mais dès que ces proportions d'eau sont dépassées, la matière colorante sort des corpuscules sanguins.

Comme les globules rouges de ces animaux ne laissent diffuser leur matière colorante que lorsqu'une solution de NaCl a une concentration inférieure à 0,6 — 0,537 — 0,382 — et 0,21 pour cent, Hamburger pense que la pression osmotique originelle du sérum de ces différents animaux est respectivement égale à celle d'une solution de NaCl dont la concentration serait environ de 0,9 — 1,18 — 0,936 — et 0,64 p. 100.

Dans ses premières publications, cet auteur s'était rallié aux idées de de Vries : c'est-à-dire qu'il admettait que les

corpuscules sanguins étaient perméables à l'eau, mais imperméables aux molécules salines et aux autres substances dissoutes. Plus tard (1), cependant, ses idées se modifièrent (2) et Hamburger admit qu'il se produisait des échanges entre les sels contenus dans les globules et les éléments dissous dans la solution ambiante ; mais — théorie singulière — ces échanges auraient toujours lieu dans des conditions *isosmotiques* ; c'est-à-dire que pour chaque quantité de sel (ou autre substance) que les globules prennent au milieu qui les baigne, ils abandonneraient à ce milieu une masse de substances salines (provenant de leurs matériaux constitutifs), équivalente, au point de vue osmotique, à la masse de substances salines empruntée au milieu ambiant. « Comme, d'autre part, Hamburger attribue lui-même le gonflement des globules dans les solutions de pression osmotique inférieure à celle du sérum sanguin à la pression osmotique des sels contenus dans les globules (3), il faudrait admettre que les globules rouges fussent imperméables, ou du moins très peu perméables à leurs propres sels, quand ils sont entourés d'eau ou d'une solution saline diluée, alors que ces mêmes globules seraient perméables aux sels et aux substances les plus diverses dissoutes dans le liquide ambiant dès que ce dernier acquerrait une pression osmotique égale au contenu normal des globules ; il faudrait aussi que dans ce dernier cas, les globules du sang fussent doués d'une perméabilité vis-à-vis de leurs propres sels, égale à celle qu'ils auraient vis-à-vis de n'importe quel composé du milieu ambiant... L'improbabilité de cette hypothèse est si grande, qu'on ne pourrait l'admettre que si elle était confirmée par de nombreuses expériences. » (Overton, Nagels Handbuch, tome II, chap. II).

Gryns et Hedin partagent les mêmes doutes qu'Overton. Cependant Gryns (4) dit qu'il n'est pas impossible que dans certains cas, une solution influence les globules d'une façon telle que ces derniers deviennent perméables à certaines substances auxquelles ils étaient auparavant imperméables.

(1) Hamburger. Zeitschrift f. Biologie. Tome 8. 1890.

(2) A tort, selon Overton, en ce qui concerne les solutions salines.

(3) Ce qui d'après Overton, ne serait pas tout à fait exact.

(4) Gryns. Pflug. Arch. 63, 1896.

Par exemple, il ne serait pas improbable que le passage d'alcool à travers la membrane plasmique rendit cette dernière un peu plus perméable à certains composés, de même que le pouvoir dissolvant du benzol, du chloroforme, etc., pour les matières colorantes, se trouve notablement modifié par l'addition de petites quantités d'alcool. Toutefois, les modifications de perméabilité de la membrane par ce mécanisme ne doivent être qu'exceptionnelles ; et le fait n'a d'ailleurs pas été démontré expérimentalement (Gryns).

N'est-il pas intéressant d'observer combien les auteurs qui, avec Hamburger, admettent *à priori* que les échanges cellulaires sont conditionnés par des phénomènes osmotiques, ont de peine à expliquer par eux les faits qu'ils ont observés ? Nous reviendrons sur cette question quand nous aurons exposé nos recherches personnelles.

Application de la théorie lipoïde aux cellules animales.
En 1895, Overton (1) avait fait observer qu'en présence de nombreux composés, les globules rouges se comportaient comme les cellules végétales, c'est-à-dire que les substances qui pénètrent dans les cellules végétales, pénètrent également dans les globules rouges.

En 1896, Overton (2) ajouta que les vitesses de pénétration étaient les mêmes dans les deux règnes.

La même année, Gryns (loc. cit.), conclut également de ses recherches, que les globules rouges sont imperméables aux sels neutres, à la mannite, à la dextrose, au sucre de canne, au sucre de lait, en un mot aux substances insolubles dans les lipoides, alors qu'ils sont perméables aux divers composés organiques et à certains sels d'ammonium qui sont solubles dans les lipoides.

Hedin (3) se rallie aux idées d'Overton et de Gryns.

Enfin, en 1907, Fühner et Neubauer (4) constatèrent que le pouvoir hémolytique des différentes solutions qui produisent la diffusion de l'hémoglobine hors des globules, croît avec leur solubilité dans les lipoides.

Nous allons maintenant étudier avec Overton (Nagel's

(1) Overton. *Vierteljahrsschrift der Naturgesel. in Zurich* 1895 40.

(2) Overton, loc. cit. 1896 41.

(3) Hedin *Pfl. arch.* 68, 229 1897 et 70 525 1898.

(4) Fühner et Neubauer. *Arch. fur experim. Pathol. u. Pharmak* 56 333 1907.

Handbuch, page 838), quelques phénomènes osmotiques particulièrement intéressants.

Changements de volume subis par les globules rouges lorsqu'ils sont immergés dans des solutions de sels ou de sucre à différentes pressions osmotiques. — Quand des globules rouges, préalablement immergés dans une solution saline ayant une pression osmotique égale à P sont transportés dans une solution de même sel de pression osmotique égale à P' , le changement de volume des globules n'est nullement proportionnel à la différence qui existe entre les pressions P et P' ; mais la différence entre le volume V et le volume V' qu'ils acquièrent dans la solution P' est plus petit que la différence entre les pressions osmotiques P et P' . Hédin (1), Hamburger (2) et Kœppe (3), sont d'accord sur ce fait. Quelle explication peut-on en donner ?

Hamburger croit que les corpuscules sanguins sont composés d'un stroma solide et d'une solution qui remplit ses mailles. Or, le *stroma* proprement dit ne participerait pas au changement de volume. Hamburger a essayé de mesurer son volume, mais Overton pense que le chiffre qu'il a trouvé est trop élevé.

Kœppe dit que c'est à l'élasticité de la membrane globulaire qu'il faut attribuer le phénomène en question. « Mais, fait observer Overton, il ne peut cependant pas être question, pour les corpuscules sanguins, d'une membrane dans le sens ordinaire du mot, mais seulement d'une couche périphérique un peu plus épaisse qui répondrait à la membrane plasmique (Plasmahaut), des cellules végétales ; et cette membrane ne saurait offrir une notable résistance à la distension... L'explication du fait est très simple : elle repose sur la haute contenance du globule rouge en *substance sèche*. Hamburger et d'autres auteurs ont prétendu que seuls, les sels des globules rouges pouvaient exercer une influence sur leur pression osmotique, et cela, parce que le poids moléculaire de l'hémoglobine était très élevé, sa concentration moléculaire à l'intérieur du globule doit être trop faible pour entrer en ligne

(1) Hédin. Skandinawische Arch. für Physiologie 2 1892 et Pfl. arch. 60 1895.

(2) Hamburger. Arch. für Physiol. p. 317, 1898.

(3) Kœppe du Bois-Reymond arch. 1895.

de compte dans les phénomènes osmotiques. Mais cette opinion n'est pas juste. Dans son hypothèse, Hamburger oublie que lorsqu'il s'agit de solutions à fortes concentrations, la pression osmotique augmente beaucoup plus vite que le volume ne diminue, ce qui prouve que la concentration en *poids* entre davantage en ligne de compte que la concentration moléculaire. » (Overton, loc. cit.).

Ainsi, tandis qu'une solution de gomme arabique à 30 p. 100 n'exerce qu'une pression osmotique égale à celle d'une solution de NaCl à 0,6 p. 100, on constate qu'une solution de gomme arabique à 60 p. 100 est isosmotique à une solution de NaCl à 7 p. 100.

Si on prend du sérum de bœuf isotonique à une solution de NaCl contenant en poids 0,9 p. 100 de sel, et qu'on réduise ce sérum par évaporation (à temp. inférieure à 40° C.), au *quart* de son volume primitif, on constate que sa tension de vapeur n'est pas égale à celle d'une solution de NaCl contenant $0,9 \times 4$, c'est-à-dire 3,6 p. 100 de sel, mais à celle d'une solution de NaCl à 5 p. 100. Ce sérum, arrivé à ce degré de concentration, ne contient pas encore tout à fait le même pourcentage de substance sèche que les globules rouges normaux ; et si on prend un gramme de ce sérum concentré et que l'on continue à l'évaporer, on voit que la tension de vapeur descend à la même valeur que celle d'une solution contenant 10 p. 100 en poids de NaCl , dès que le volume du sérum est descendu aux 7 dixièmes de ce qu'il était, lorsque sa tension de vapeur était égale à celle d'une solution contenant 5 p. 100 en poids de NaCl . Par conséquent, une diminution de volume de sérum de $\frac{3}{10}$ s'est traduite par une différence de pression de vapeur égale à la moitié ($\frac{5}{10}$) de ce qu'elle était avant cette diminution de volume (1). Or, d'après Overton, l'abaissement de volume du sérum aux $\frac{7}{10}$ de son

(1) On sait que, d'après la loi de Wüllner, la pression de vapeur décroît proportionnellement à la quantité de substance dissoute dans le même poids de solution. Une solution contenant 10 p. 100 en poids de NaCl a donc une pression de vapeur égale à la moitié ou aux $\frac{5}{10}$ de la tension de vapeur d'une solution contenant en poids 5 p. 100 de NaCl .

poids primitif (c'est-à-dire une diminution de volume de $\frac{3}{10}$) répond précisément à un changement de volume absolument comparable à celui que subissent les globules rouges quand on les transporte d'une solution contenant 0,9 p. 100 de son poids de NaCl dans une solution de NaCl qui contient 1,8 p. 100 (quand on les transporte, par conséquent, dans une solution ayant une pression de vapeur égale à la moitié $\left(\frac{5}{10}\right)$ de celle qu'avait la solution d'où on les prend).

Le stroma des globules rouges doit participer au changement de volume de ces derniers, mais en tant que système susceptible de subir un gonflement limité.

Pour des raisons analogues à celles que nous venons d'examiner chez les globules rouges, les changements de volume subis par toutes les autres cellules, ne doivent pas être proportionnels aux concentrations des solutions dans lesquelles elles baignent, et lorsque des cellules baignées dans une solution de pression osmotique P et ayant dans cette solution un volume V sont transportées dans une solution de pression osmotique P', le rapport $\frac{V}{V'}$ est beaucoup plus petit que ne l'indiquerait le rapport $\frac{P'}{P}$.

Nous avons, dans les pages précédentes, analysé l'article d'Overton et exposé la théorie lipoïde telle que cet auteur l'avait conçue. Nous allons, dans le chapitre suivant, relever les objections qui furent faites aux travaux d'Overton et faire la critique de la théorie lipoïde telle qu nous la trouvons exposée dans l'ouvrage de Höber (1).

(1) Höber (loc. cit.).

CHAPITRE III

Critique de la théorie lipoïde (d'après HÖBER) ⁽¹⁾

Caractère incomplet de la théorie lipoïde : elle ne s'applique qu'à un nombre limité de substances. — Les substances auxquelles elle s'applique sont celles qui intéressent le moins les échanges normaux de la cellule. — Quels que soient les faits relevés sur les propriétés dites osmotiques des cellules, que ces faits aient été observés sur des cellules ovulaires, sur des cellules appartenant à des végétaux supérieurs ou inférieurs, sur les différents éléments cellulaires des animaux supérieurs, les corpuscules sanguins, les muscles, les cellules intestinales, ou enfin sur les animaux inférieurs, tous ces faits montrent, avec une remarquable concordance, les relations qui existent entre les propriétés de pénétration d'une substance dans les cellules et sa solubilité dans les lipoïdes. A mesure que les recherches se multiplient, cette loi se dégage de plus en plus clairement : c'est que les substances qui se dissolvent fortement dans les lipoïdes pénètrent immédiatement, ou du moins très rapidement, dans les cellules, alors que celles qui se dissolvent difficilement dans les lipoïdes ne pénètrent que lentement dans les tissus. « Nous arrivons ainsi à cette conclusion que les propriétés d'absorption, comme les propriétés d'élimination des cellules sont des phénomènes physico-chimiques, et que ce n'est ni l'individualité des cellules, ni un pouvoir électif particulier aux différentes cellules, qui conditionnent ces processus. » (Höber, loc. cit., p. 226).

(1) R. Höber. *Physikalische Chemie*, etc. Leipzig, 1911 (pages 226-266). Bien que les recherches de P. Girard (1913) et de Mayer et Schaeffer (1914) ne soient pas mentionnées dans le chapitre d'Höber (1911) nous les y avons rattachées : celles de P. Girard parce qu'elles sont un complément aux propres recherches de Höber, — celles de Mayer et Schaeffer parce qu'elles constituent une critique de la théorie lipoïde.

Nous allons voir maintenant si cette façon de voir permet d'expliquer tous les phénomènes connus touchant les échanges de matière dans les organismes vivants.

Il est curieux que la théorie lipoïde qui a tant de faits à son actif ait suscité autant de scepticisme chez un si grand nombre de physiologistes. Cela tient, selon Höber, à ce que cette théorie mène à des conclusions qui sont en opposition directe avec des idées généralement admises. Tout d'abord, l'expérience montre que les sucres, les acides animés, les sels neutres inorganiques, etc., bref, que des substances faisant normalement partie du contenu cellulaire et qui jouent un rôle important dans l'activité des cellules, ne pénètrent pas à travers la membrane plasmique. La théorie lipoïde donne de ces faits l'explication suivante : les substances en question sont insolubles dans les lipoïdes et pour cette raison, ne traversent pas la membrane.

D'autre part, on constate que maintes substances qui altèrent gravement le fonctionnement de la cellule, sont cependant insolubles dans les lipoïdes et ne paraissent pas pénétrer à l'intérieur des cellules. Ainsi, les sels de Potassium ne paraissent pas pénétrer dans les muscles (1) et cependant paralysent ces derniers. Ces faits semblent évidemment extraordinaires. *Nous verrons, dit Höber, que nous serons amenés à faire une révision des hypothèses émises jusqu'à ce jour, sur la constitution de la membrane plasmique. Nous verrons que l'hypothèse qui fit de cette dernière UNIQUEMENT une membrane lipoïde, est insuffisante à expliquer tous les faits* (2). La membrane plasmique est bien une membrane lipoïde, mais elle n'est pas que cela ; elle possède encore d'autres propriétés qui font d'elle un élément plus compliqué qu'on l'avait supposé. C'est précisément parce que les propriétés additionnelles dont nous venons de parler, ne sont pas encore nettement établies, que beaucoup de physiologistes rejettent la théorie lipoïde. Höber ne pense pas que leur attitude soit justifiée. Il reconnaît que cette théorie ne saurait

(1) Nous rappelons que ce qui est écrit ici est emprunté à l'ouvrage de Höber ; ce sont ses idées, d'ailleurs très documentées, que nous reproduisons ici. On voit qu'elles reposent sur l'hypothèse d'une membrane cellulaire. Nous ne présenterons notre manière de voir à ce sujet qu'après l'exposé de nos recherches.

H. W.

(2) C'est nous qui soulignons.

expliquer à *elle seule* tous les faits connus, mais sans parler de sa valeur dans l'explication de certains phénomènes pharmacologiques et toxicologiques, elle a l'avantage, de délimiter nettement les phénomènes physiques et les phénomènes physiologiques qui accompagnent l'entrée et la sortie des substances dans les tissus ; elle trace des limites plus tranchées entre ce qui est acquis et ce qui est encore problématique, et enfin elle indique des voies toutes spéciales à l'analyse des phénomènes encore incomplètement connus. Voyons d'abord quelques-unes des objections qui ont été faites soit aux expériences d'Overton soit aux conclusions que cet auteur en avait tirées.

Objections et théorie de Traube ; Perméabilité et tension superficielle. — Il y a quelques années, J. Traube (1) soutint que tous les phénomènes osmotiques et, en particulier, ceux que l'on observe dans les organismes vivants, étaient des phénomènes de chimie capillaire (Kapillarchemische Vorgänge). Cet auteur était d'avis de rayer tout simplement la théorie lipoïde sous prétexte que l'on pouvait donner une explication bien plus générale de l'osmose que celle qui était fournie par l'hypothèse de la membrane lipoïde d'Overton. J. Traube constata, en effet, que la vitesse avec laquelle (d'après les observations d'Overton), une substance pénétrait dans les cellules était d'autant plus grande que cette substance diminuait la tension superficielle de l'eau par rapport à l'air. J. Traube explique de la façon suivante la relation qu'il avait découverte entre la tension superficielle et la vitesse osmotique.

D'après un théorème de Gibbs et J.-J.- Thomson, une substance dissoute s'accumule en proportion d'autant plus grande à la surface du solvant qu'elle diminue la tension superficielle. Par conséquent, plus la tension superficielle d'une solution aqueuse sera faible, plus les molécules du corps dissous auront tendance à abandonner le milieu solvant pour aller vers sa surface, ou, pour employer l'expression de Traube, moins la *force de rétention* (Haftdruck), au sein de

(1) J. Traube. Pflug. Arch. 105, 541-559 (1904) et 132, 511 (1910). Ion 1, 312 (1909); Verhandl. d. deutsch. physik. Gesel. 10, 880 (1908); Traube et Blumenthal. Zeitschr. exper. Path. u. Therap. 117 (1905).

la solution sera considérable. D'après Traube, il s'ensuivrait que lorsqu'une membrane sépare deux solutions, l'endosmose doit se faire vers celle qui possède la plus grande *force de rétention*, la vitesse osmotique étant proportionnelle à la différence des *forces de rétention*.

Traube apporte comme argument en faveur de sa théorie les faits suivants : d'après ses observations, les alcools monovalents, en commençant par l'alcool méthylique et mélangés à l'eau dans des proportions équivalentes, abaissent la tension superficielle de l'eau dans les rapports de 1 : 3, 1 : 3², 1 : 3³... ; or, Fühner (1) a montré que l'action d'arrêt exercée par ces mêmes alcools sur l'évolution des œufs d'oursins avait une efficacité (efficacité qui ne serait, en somme, que l'expression de leur force endosmotique), parallèle aux rapports énoncés plus haut.

Fühner et Neubauer (2) ont constaté ce même parallélisme dans l'action des alcools monovalents sur les phénomènes hémolytiques, et Overton sur la narcose.

S'il existe réellement une relation constante entre la tension superficielle d'une part, la direction et la vitesse de l'endosmose d'autre part (relation sur laquelle est fondée la théorie de Traube), il faut bien dire, qu'au premier abord, on aurait le droit de devenir sceptique sur la théorie lipoïde. L'hypothèse d'une membrane lipoïde semble inutile, et on est tenté de rapporter, de tout expliquer par l'existence d'une couche limitante quelconque. Mais, dit Höber, ce serait là, précisément, une erreur manifeste ; et les expériences des physiologistes nous fournissent toute une série de faits qui prouvent que la *nature* de la membrane influe sur le cours des phénomènes osmotiques.

Rappelons, simplement, que la perméabilité des cellules mortes est toute différente de celle des cellules vivantes ; que la membrane cellulosique des végétaux est perméable à un grand nombre de substances, auxquelles la membrane plasmique des mêmes cellules ne l'est pas. De plus, certains mélanges de solutions ne se comportent pas physiologiquement comme l'indiquerait la théorie de Traube. D'après cette

(1) Fühner. Arch. f. experim. Pathol. 52, 69 (1904).

(2) Fühner et Neubauer. Arch. f. experim. Pathol. 56, 333, 1907.

dernière, en effet, la force endosmotique d'une substance dissoute devrait être accrue par l'addition d'une seconde substance qui abaisserait la tension superficielle de la solution. Or, ce n'est pas toujours le cas. Si, par exemple, on prend une solution de NaCl dans laquelle un muscle de grenouille se trouve en équilibre de poids, et qu'on ajoute à cette solution un peu d'alcool, on constate que le poids et le volume du muscle, indicateurs des phénomènes osmotiques, restent invariables. De même, une substance en solution n'est pas résorbée plus rapidement par l'intestin quand on ajoute à la solution une seconde substance, alors que, d'après la théorie de Traube, la résorption devrait être accélérée par l'addition d'une seconde substance, puisque l'addition de cette dernière abaisse la tension superficielle (Buglia) (1).

Sous l'impression de ces faits, Traube modifia peu à peu sa théorie première, et cela, en faisant dépendre la direction et la vitesse osmotiques, non plus seulement de la « *force de rétention* » que les éléments dissous subissent au sein des solutions, mais encore de la *force de rétention* qu'ils subissent au sein de la substance constituante de la membrane (2).

Mais cette conception, se demande Höber, est-elle donc si différente de celle d'Overton qui attribue le processus osmotique à une affinité solvante spéciale de la membrane ? On peut encore se demander comment il se fait que, dans la plupart des cas, la vitesse osmotique et la tension superficielle marchent parallèlement à leur solubilité dans les lipoides. C'est, d'ailleurs, avec raison que Traube donne lui-même l'explication de ces faits, en faisant les deux remarques suivantes : la première est que la tension superficielle entre l'eau et l'air est plus variable que celle qui existe entre les lipoides et l'air ; et la seconde remarque, la plus importante, est que les tensions superficielles à la limite de l'eau et de l'air d'une part, et à la limite des milieux solvants huileux (ou étherés) et l'air, d'autre part, subissent souvent des modifications réciproques. Enfin, il existe des expériences dans lesquelles le parallélisme entre les trois facteurs : solubilité dans les

(1) Buglia. Biochem. Zeitschr. 22, 1. 1909.

(2) J. Traube. Pflug. Arch. 123, 421-422. 1908.
Biochem. Zeitsch. 24, 323. 1910.

lipoïdes, vitesse osmotique, et tension superficielle, fait défaut.

Les expériences de ce genre montrent parfois, qu'au point de vue physiologique, les propriétés osmotiques d'une substance sont plutôt en relation avec sa solubilité dans les lipoïdes qu'avec la tension superficielle. Par exemple, il n'existe, jusqu'à présent, aucun fait qui permette d'affirmer que des solutions de peptone (qui sont insolubles dans les lipoïdes) aient pénétré dans les cellules par voie osmotique : or, la peptone abaisse considérablement la tension superficielle.

Traube (1) fait encore observer lui-même que si on dissout dans une solution de sel de cuisine, différentes substances solubles dans les lipoïdes, de façon à obtenir des concentrations-limites hémolysantes, les diverses solutions obtenues n'ont nullement la même tension superficielle. Or, cela devrait être le cas, si, considérant l'hémolyse comme un fait osmotique, elle ne dépendait *que* de la tension superficielle de la solution aqueuse, et si elle ne dépendait pas aussi de ce que les substances actives sont solubles dans les lipoïdes. Il résulte de tout cela, que la théorie de Traube, considérée du point de vue physiologique, ne marque aucun progrès. Cette théorie ne fait que traduire dans un autre langage ce que l'on savait déjà sur les phénomènes d'osmose cellulaire. « Traube parle de *force de rétention* là où, avant lui, on parlait de *solubilité dans les lipoïdes*. » (Höber, loc. cit., p. 231).

Coloration vitale des cellules. — Les expériences faites sur ce sujet sont devenues, selon l'expression d'Höber, le « *talon d'Achille* » de la théorie lipoïde. Bien qu'Overton considérât au début de ses recherches la coloration vitale des cellules comme une des bases les plus solides de sa théorie, il se trouva plus tard en présence de sérieuses difficultés pour interpréter les phénomènes observés. Il est, en effet, très difficile d'attribuer la perméabilité des cellules vivantes aux matières colorantes à ce que des substances grasses imprègnent la surface du protoplasma, alors que certaines substances colorantes *intra vitam* (comme, par exemple, le bleu de méthylène) sont complètement insolubles dans l'huile et

(1) J. Traube. Biochem. Zeitschr. 16, 371 (1908).

dans certaines solutions de corps appartenant à la série aromatique, comme le benzol et le xylol. Or, Overton avait déjà eu l'idée que la cholestérine et la lécithine qui entrent dans la composition du stroma de toutes les cellules pouvaient bien prendre part, à titre de lipoides, à la composition de la membrane plasmique ; et cette supposition devint d'autant plus vraisemblable, qu'Overton constata que les colorants vitaux qui ne se dissolvent pas dans l'huile, se dissolvent dans la lécithine et la cholestérine, alors que les substances qui ne colorent pas les cellules vivantes sont insolubles dans ces deux derniers lipoides.

La cholestérine et la lécithine considérées comme lipoides, et étudiées dans leurs rapports avec les hémolysines. — Höber relate quelques expériences qui semblent démontrer la présence de *cholestérine* et de *lécithine* à la surface des cellules. Ransom (1), sous la direction de Hans Meyer, constata que les propriétés hémolytiques de la *saponine* reposent sur ce que cette dernière entre en réaction avec un composant du stroma des corpuscules sanguins, la cholestérine. C'est ce qui explique que les globules peuvent être protégés contre l'action de la saponine, si on détourne cette dernière des globules rouges en ajoutant au sérum de la cholestérine. Il existe une relation analogue entre la *saponine* et la *lécithine* (2).

D'autre part, Kyes, sous la direction d'Ehrlich (3), constata que l'action hémolysante du venin de Cobra est activée par la lécithine du sang. La mise en présence de ces deux corps donne lieu à la formation d'une *lécithide*.

La solanine, l'agaricine, la tétanolysine, l'arachnolysine, et d'autres hémolysines, agissent comme la saponine et le venin de cobra.

Il semblerait donc que les hémolysines typiques pussent agir en provoquant une sorte d'arrosion des corpuscules sanguins. Cette hypothèse paraît être confirmée par les expé-

(1) Ransom in. Deutsche Medizin. Wochenschrift 194, 1901.

(2) Kobert. Beiträge für Kenntniss der Saponin-Substanz. Stuttgart 1904.
Noguchi. University of Pennsylvania Medical Bullet. Nov. 1902.

(3) Kyes. Berlin. Klin. Wochenschrift 886, 1902.

Kyes et Sachs. loc. citato. 27, 1903.

riences que Pascucci (1) (d'après les conseils d'Hofmeister), entreprit sur les membranes lipéïdes artificielles.

Cet auteur imprégna de la soie avec de la *lécithine* et de la *cholestérine* et les membranes ainsi constituées servaient à séparer une solution d'hémoglobine (ou de cochenille) d'une part, et des solutions d'hémolysines d'autre part. On constate que ces membranes devenaient, petit à petit, perméables aux matières colorantes. Les membranes étaient protégées contre les hémolysines quand on agitait préalablement ces dernières avec de la cholestérine ; elles se comportaient donc exactement comme les globules du sang dans les expériences de Ransom.

Pascucci constata encore que les membranes de cholestérine étaient attaquées plus lentement que les membranes de *lécithine*, ce qui explique que les membranes contenant un mélange de *lécithine* et de cholestérine étaient d'autant plus résistantes que la proportion en cholestérine était grande.

En concordance avec ce qui vient d'être dit, Kurt Meyer (2), Rywosch (3) et Port (4), constatèrent que les globules sanguins, dont les lipéïdes contenaient de la cholestérine en quantité prédominante (ovidés et bovidés) étaient plus résistants à la saponine que ceux dont les lipéïdes contenaient moins de cholestérine (lapin, porc, chien). Il existerait donc une analogie très grande entre les globules sanguins et les membranes lipéïdes artificielles. Si on ajoute à cela que, d'après Kobert, Loeb, Neufeld et Händel, les hémolysines n'ont pas seulement une influence perturbatrice sur les globules rouges, mais qu'ils exercent une action *cytolytante*, on conçoit que certains auteurs aient été tout disposés à admettre que la membrane plasmique contienne, dans sa constitution, de la *cholestérine* et de la *lécithine*.

Bien que Ruhland (5) objecte qu'on ne peut pas assimiler les membranes lipéïdes artificielles de Pascucci aux membranes naturelles, il n'en est pas moins vrai que les faits que nous venons d'énumérer semblent confirmer la théorie

(1) Pascucci Hofmeister's Beitr. 6, 552, 1905.

(2) Kurt Meyer. Hofmeister's Beitr. 11, 357. 1902.

(3) Rywosch Plug. Arch. 116, 229, 1907.

(4) Port. Deutsche arch. für Klin. Medizin 99, 259, 1910.

(5) Ruhland. Jahrbuch für wissenschaftl. Botanik 46, 1. 1908.

d'Overton qui fait de la membrane plasmique une membrane lipoïde.

Théorie d'Overton sur la coloration vitale. — Depuis longtemps déjà, Ehrlich (1) avait remarqué, au cours de ses recherches sur la colorabilité du système nerveux, que c'étaient les matières colorantes *basiques* qui coloraient les tissus pendant la vie. Cet auteur signala également les faits suivants : premièrement, que les colorants basiques *neurotropes* étaient également « lipotropes » (du moins d'une façon générale) ; et deuxièmement, qu'aussitôt que les colorants basiques sont transportés dans les sulfo-acides, ils perdent à la fois leur pouvoir colorant *intra vitam* de la substance nerveuse, leur neurotropisme et leur lipotropisme.

Fischel (2) établit également, par de nombreuses expériences, que les colorants *intra vitam* sont les colorants *basiques*. Mais c'est Overton qui établit le premier une véritable théorie sur les colorants vitaux. Ayant constaté, d'une part, que les colorants vitaux sont lipotropes, et, d'autre part, qu'ils ne colorent pas seulement les éléments nerveux si riches en lipoïdes, mais plus ou moins toutes les cellules vivantes, Overton en tira cette conclusion que les colorants *intra vitam* pénètrent dans les cellules vivantes, parce que ces dernières sont pourvues d'une enveloppe lipoïde. La coloration *intra vitam* ne serait ainsi qu'un cas particulier d'assimilation cellulaire conformément à la théorie lipoïde émise par Overton.

Si nous nous rappelons que l'insolubilité d'un grand nombre de colorants vitaux dans les huiles et les substances aromatiques ont amené Overton à considérer la *cholestérine* et la *lécithine* comme constituants lipoïdes de la membrane plasmique (à cause de leurs propriétés dissolvantes), nous pouvons énoncer la théorie d'Overton sur les colorants de la façon suivante : *Les colorants intra vitam sont ceux qui se dissolvent dans la cholestérine la lecithine ; les matières qui ne sont pas solubles dans ces deux corps, sont incapables de colorer les cellules vivantes.*

(1) Ehrlich. Therapeutische Monatshefte, mars 1887.

Konstitution, Verteilung und Wirkung chemischer Körper. Leipzig. 1893.

(2) Fischel. Anatom. Hefte von Merkel et Bonnet. Hefte 52, 53, 1901.

Objections à la théorie d'Overton sur les colorants *intra vitam*. — Tout d'abord, il existe un certain nombre de cellules qui absorbent *intra vitam* des matières colorantes insolubles dans les lipoïdes. Cependant, remarque Höber, ces faits n'infirment pas la théorie lipoïde. Cette dernière prétend uniquement que toutes les cellules contiennent, à leur surface, des substances lipoïdes qui confèrent aux cellules certaines propriétés osmotiques. Mais, ajoute Höber, nous aurons encore à parler de maintes expériences qui montrent que la membrane plasmique n'est pas constituée exclusivement par des substances lipoïdes, mais qu'il entre encore *autre chose* dans sa constitution et cette *autre chose* peut parfaitement conférer aux cellules des propriétés *d'assimilation* qui, dans certains éléments histologiques, s'adaptent à des fonctions déterminées (par exemple, à des fonctions sécrétoires ou excrétoires).

Mais la première partie de l'énoncé de la théorie d'Overton est-elle vraie ? Peut-on dire que toutes les matières colorantes solubles dans les lipoïdes colorent les cellules *intra vitam* ? Höber n'avait jamais rencontré une seule substance qui, soluble dans les lipoïdes, ne pénétrât pas dans les cellules. Mais, plus récemment, Ruhland (1), après avoir fait de nombreuses expériences sur la coloration *intra vitam* de spirogyres, déclara que ces recherches infirmaient la théorie lipoïde, parce qu'il y avait des colorants *insolubles* dans les lipoïdes qui pénétraient dans les cellules, et des colorants *solubles* dans les lipoïdes qui n'y pénétraient pas.

Höber (2) reprit les expériences de Ruhland. Ses résultats furent quelquefois un peu différents de ceux obtenus par ce dernier. Cependant, Höber reconnaît que l'on peut faire à la théorie lipoïde les principales objections suivantes :

1° Il existe quelques colorants basiques (trois sur 35 qui ont été examinés jusqu'à présent), qui sont insolubles dans les lipoïdes et qui colorent les cellules *intra vitam* : ces trois colorants sont la *thionine*, le vert de *méthyle*, et le vert de *méthyle-cristal I jaunâtre*.

2° Sur au moins 52 colorants sulfo-acides examinés, il y

(1) Ruhland Jahrb. f. wissenschaft. Botanik 46, 1. 1908 et Ber. der deutsch. botan. Gesells. 26, 772, 1909.

(2) Höber, Biochem. zeitschr. 20, 56, 1909.

en a un, *le rouge A*, qui malgré sa solubilité dans les lipoides, ne colore pas les éléments histologiques *intra vitam* ; et il y a, en outre, deux autres substances, le rouge 3 GA et violet S, dont les propriétés colorantes sont encore discutables, quoi qu'elles soient solubles dans les lipoides. Les 49 autres colorants sulfo-acides sont insolubles dans les lipoides et n'ont pas, non plus, de pouvoir colorant *intra vitam*.

Enfin, 3° il existe quelques substances colorantes acides (qui ne sont pas des matières colorantes *sulfoacides*) et qui, bien que liposolubles, ne pénètrent pas dans les cellules ; ces substances sont : la *cyanosine*, l'*érythrosine*, la *galléine* et le *rose bengale*.

Ces objections, fait observer Höber, sont d'inégale valeur. Le fait que des substances insolubles dans les lipoides pénètrent pourtant dans les cellules, indique simplement qu'il intervient dans les phénomènes d'osmose, d'autres facteurs que la solubilité dans les lipoides. Mais qu'il existe des substances lipo-solubles qui ne pénètrent pas dans les cellules, c'est là une objection plus sérieuse à la théorie lipoïde.

Cependant, se demande Höber, cette objection est-elle irréfutable ? Cet auteur ne croit pas que l'on puisse, actuellement, se prononcer d'une façon définitive. Tout d'abord, il faut remarquer, qu'en ce qui concerne les colorants qui se comportent anormalement, on n'a fixé que leur solubilité *absolue* dans les lipoides, et non pas leur solubilité *relative*, c'est-à-dire leur coefficient de partage entre les lipoides et l'eau (1).

Ensuite, il importe de faire observer que les substances colorantes acides sont très dissociées dans l'eau, et que, par suite de leur poids moléculaire élevé, ces substances sont, même dans des solutions intensément colorées, en très faible *concentration moléculaire*. On conçoit alors qu'il soit possible que les substances colorantes acides qui réagissent anormalement, se comportent d'une façon analogue à l'acide picrique. Or, on sait que ce dernier est soluble dans les lipoides et cependant, si on agite une solution aqueuse *très diluée* d'acide picrique avec des substances lipoides, ces dernières ne parviennent pas à séparer l'acide picrique de l'eau, et

(1) Voyez les lois d'Overton, page 54.

l'acide reste dissous dans l'eau au lieu d'être dissous par le corps lipoïde (1) (Kuriloff).

En ce qui concerne le cas inverse, c'est-à-dire que des couleurs basiques insolubles dans les lipoïdes, colorent cependant les cellules, il est bon de rappeler que lorsqu'on dit qu'un colorant est insoluble dans les lipoïdes, on veut simplement dire que si on agite le premier avec une substance lipoïde, cette dernière ne se colore pas. Mais si on songe que les substances colorantes sont des combinaisons complexes, dont les propriétés chimiques sont facilement altérables, et enfin que les matières colorantes employées dans les expériences contiennent souvent des impuretés, on admettra que les faits contradictoires observés ne suffisent pas à infirmer définitivement la théorie d'Overton. Toutefois, Höber reconnaît qu'il est possible que les faits mis en lumière par Ruhland incitent les physiologistes à faire, plus tard, une révision de la théorie lipoïde.

Avant de terminer le chapitre qu'il consacre à l'action des colorants *intra vitam*, Höber fait une intéressante remarque au sujet des colorants *aberrants*, par rapport à la théorie d'Overton. Etant donné qu'il n'est pas toujours possible de déterminer d'une façon rigoureuse, par la simple formule de constitution d'une substance colorante si celle-ci est basique ou acide, Höber eut recours, pour fixer ce point, à des expériences sur la cataphorèse des substances colorantes.

Les colorants basiques se meuvent toujours vers la cathode, les colorants acides vers l'anode. Or, les expériences de Höber montrent que tous les colorants *aberrants* qui colorent *intra vitam*, quoi qu'ils soient insolubles dans les lipoïdes, sont chargés positivement; c'est-à-dire que ces colorants *aberrants* et *actifs* sont *basiques*. Ainsi le pouvoir colorant et la charge électrique (positive), marchent toujours parallèlement, alors qu'il n'en n'est pas de même de la solubilité dans les lipoïdes et du pouvoir colorant, puisque les corps examinés par Höber (thionine, vert de méthyle, vert de méthyle cristallin I), sont insolubles dans les lipoïdes et ont tout de même un pouvoir colorant *intra vitam*. Ces résultats sont une con-

(1) Kuriloff. Zeitschrift für Physik. Chem. 25, 419, 1898.

firmation éclatante de la loi d'Ehrlich, qui dit que les colorants *intra vitam* sont toujours des colorants basiques.

Objections de J. Lœb et de Bang à la théorie lipoïde : Perméabilité apparente de certains tissus à des corps insolubles dans les lipoïdes. J. Lœb, après avoir provoqué par l'emploi de certaines substances, une membrane germinative sur des œufs d'oursins, parvient à faire évoluer les œufs artificiellement en les transportant pendant un court espace de temps dans une solution hypertonique, puis en les remplaçant dans de l'eau de mer normale. En examinant de plus près l'influence de l'hypertonie, J. Lœb constata que des solutions hypertoniques de sucre d'une part, et de différents sels d'autre part, qui, d'après le calcul, devaient exercer la même pression osmotique, exerçaient cependant une action différente sur l'évolution des œufs d'oursins. En comparant l'action de ces différentes solutions, J. Lœb remarqua que les solutions sucrées agissent comme si elles avaient une pression osmotique très supérieure à celle des solutions salines. Ainsi, la solution de NaCl exerçant l'action la plus favorable sur l'évolution des œufs a, d'après le calcul, une pression de 30,3 atmosphère, tandis que la solution de sucre de canne optima, n'a qu'une pression de 21,5 atmosphère.

Lœb explique le fait de la façon suivante : quand les œufs sont immergés dans la solution saline, ils acquièrent rapidement la même pression osmotique que celle de leur milieu extérieur, *par suite de l'entrée de sel dans leur intérieur* ; tandis que, lorsqu'ils sont immergés dans une solution de sucre, ce dernier ne pénètre que lentement dans l'œuf, de sorte que, pendant ce temps, les sels contenus normalement à l'intérieur de l'œuf, ont le temps de diffuser vers la solution sucrée. Il s'ensuit que la différence de pression osmotique entre le milieu extérieur et le milieu intérieur, se trouve encore accrue, et, par conséquent, que dans le même espace de temps, une solution sucrée soutire plus d'eau aux œufs que ne le ferait une solution salée de même pression osmotique.

Ainsi, fait observer Höber (p. 240), J. Lœb suppose, dans son explication, comme hors de doute, que le sel et le sucre (substances insolubles dans les lipoïdes), diffusent sans

difficulté à travers la membrane de l'œuf. Or, nous savons que des substances de ce genre ne diffusent que dans des cellules mortes dont les parois, en voie de destruction, n'ont plus leurs propriétés normales.

D'autre part, Berkeley et Hartley (1) ont montré qu'à toutes concentrations, les solutions de sels et de sucres n'exerçaient pas une pression osmotique comparable à celle qu'elles exercent à de faibles concentrations ; mais que, parmi les solutions fortement concentrées, c'était celle dont le poids spécifique était le plus élevé qui exerçait la pression osmotique la plus marquée. Il faudrait donc que J. Lœb établît la différence RÉELLE de pression qui existait entre ses solutions hypertoniques salées et sucrées, et s'assurât que l'action plus énergique exercée par la solution sucrée n'a pas été qu'apparente, c'est-à-dire que cette action plus énergique n'ait pas tenu à ce que la solution sucrée théoriquement isotonique à la solution salée, lui était, en réalité, hypertonique, par suite de l'excès de son poids spécifique. D'ailleurs, si l'explication de J. Lœb était exacte, il aurait fallu que les œufs immergés dans la solution sucrée commençassent par se ratatiner par suite de la perte d'eau subie au début de leur immersion, puis, qu'ils se gonflassent de nouveau, par suite d'absorption d'eau subie dans la seconde période de l'expérience. Or, il n'est nullement question de phénomènes de ce genre. Höber fait encore observer qu'en solutions isotoniques, les différents sels minéraux *exercent chacun une action spécifique*, et qu'enfin, le sucre exerce à son tour une action particulière indépendamment de sa concentration ; toutes ces considérations, dit Höber, montrent que les objections de J. Lœb contre la théorie lipoïde ne sont guère fondées.

J. Bang (2) a publié des expériences qui doivent, selon lui, démontrer la perméabilité des globules rouges aux sels. Si on immerge des globules rouges de bovidés dans une solution de sucre de canne à 8 p. 100, et que l'on dilue cette solution avec de l'eau, on observe que lorsque la proportion de sucre est descendue, à environ 5 p. 100, les globules rouges laissent sortir de l'hémoglobine. Bang s'assura ensuite que si on laisse

(1) Berkeley et Hartley. *Proceed. Royal. Soc.* 73, 436, 1904.

(2) J. Bang. *Biochem. zeitschr.* 16, 255, 1909.

les globules séjourner quelques heures dans la solution sucrée à 8 p. 100, avant de la diluer, il faut faire descendre la proportion de sucre à 2 p. 100 avant de constater la sortie d'hémoglobine.

Bang donne de ces faits l'explication suivante : dans la solution de sucre de canne, les sels minéraux diffusent hors des globules ; par conséquent, plus ces derniers restent de temps dans une solution sucrée, plus leur pression osmotique diminue ; c'est pourquoi plus les globules sont restés de temps dans la solution initiale, plus on est obligé de diluer cette dernière, pour qu'elle devienne hypotonique, par rapport aux globules sanguins et qu'elle permette à ceux-ci, sous l'influence de leur augmentation de volume croissante, d'abandonner leur hémoglobine.

Pour établir cette hypothèse, Bang s'appuie sur l'expérience de Gürber (1) qui, après avoir lavé des globules avec une solution sucrée, découvrit, à l'analyse, que les globules avaient abandonné des sels à la solution. Mais Höber ne trouve pas que l'hypothèse de Bang soit satisfaisante, car Gürber constata également qu'après un long séjour dans une solution de sucre de canne, les globules gardaient cependant leur forme, au lieu de se ratatiner comme on devrait s'y attendre si on était uniquement en présence de phénomènes osmotiques ; car alors, la sortie de sel hors des globules devrait diminuer la pression à l'intérieur de ces derniers, en même temps qu'une sorte d'eau. Les faits observés par Bang ne sont donc pas si simples à expliquer, et Bang lui-même est obligé d'avoir recours à des hypothèses purement spéculatives (2). Ses recherches montrent seulement que le sucre de canne n'agit pas seulement par sa pression osmotique, mais qu'il agit encore en exerçant une action spécifique sur les globules. Nous sommes d'ailleurs peu fixés sur cette action spécifique.

Quelques influences nocives exercées par les sucres. —
Le sucre de canne exerce sur les tissus qu'il baigne une

(1) Gürber. Habilitationsschrift. Wurzburg 1904 et Calagareanu et Henri. Comptes rendus de la Société de Biologie 54, 210 et 356 ; 1902.

(2) Il n'en est pas moins vrai que nous avons constaté nous mêmes qu'un encéphale d'oiseau immergé dans une solution sucrée lui abandonnait du NaCl.

action particulière qui est mal connue. J. Lœb(1) examine des crustacés placés dans de l'eau de mer qu'il dilue de plus en plus avec de l'eau distillée, et note combien leur vie est raccourcie quand on les laisse vivre dans ce mélange d'eau de mer et d'eau distillée. Comme il semblait, au premier abord, que l'action nocive de ce mélange était due à une perturbation dans les phénomènes osmotiques dont les tissus des crustacés étaient le siège, J. Lœb remplaça l'eau distillée par une solution de sucre de canne de pression équivalente à celle de l'eau de mer ; il s'attendait à ce que cette addition de sucre diminuât au moins la toxicité de ce mélange. Or, il n'en est rien ; non seulement l'addition de sucre n'accroît pas la durée de la survie des crustacés, *mais elle la diminue encore par rapport au mélange hypotonique : eau de mer + eau distillée.*

Bethe (2) fit une remarque analogue. Il observa que les mouvements des méduses diminuaient déjà de vigueur dès qu'on ajoutait à 19 parties d'eau de mer, 1 partie d'eau sucrée isotonique à cette dernière.

Magnus (3) constata que des contractions péristaltiques de fragments d'intestin qui se produisaient dans une solution de Ringer étaient affaiblies par l'addition de 0,02 p. 100 de sucre de canne ou de sucre de raisin. Henderson (4) fit une remarque analogue sur le muscle. Enfin, notons que Küster (5) a trouvé qu'immergées dans des solutions de sucre de canne, des cellules végétales avaient la surface de leur protoplasma modifiée.

En somme, contrairement à l'attente des expérimentateurs, les solutions de sucre de canne se sont montrées nocives pour des éléments cellulaires très variés. Mais comment expliquer cette action nocive ?

Gürber, Calugareanu et Henri croient que les globules rouges maintenus dans une solution sucrée pendant un certain temps lui abandonnent une partie de leurs sels, d'où

(1) J. Lœb, Pfl. arch. 97 394 ; 1903, et Ostwald Pfl. arch. 106, 568 ; 1905.

(2) Bethe pfl. arch. 124, 541 ; 1908.

(3) Magnus Pflug. Arch. 102, 123 ; 1904.

(4) E. Henderson Zentvalbl. f. Physiologie 24, 519 ; 1910.

(5) E. Küster. Ber. d. botanik. gesel. 27, 589 ; 1909.

Arch. fur Entwicklungs mechanik 30 1. 351 ; 1910.
Zeitsch. f. Botanik 2, 689 ; 1910.

résulteraient des anomalies dans la constitution chimique des globules. Mais la question est de savoir si cette interprétation est valable pour d'autres éléments que les globules rouges.

Urano (1) et Fahr (2) ont constaté que des sartorius de grenouille, immergés dans de l'eau sucrée ne perdent, après 22 heures d'immersion que très peu de sels, même quand la solution sucrée est renouvelée plusieurs fois. Ces muscles ne perdent guère plus de sels qu'il n'y en a dans le tissu conjonctif interfibrillaire. C'est d'ailleurs en accord avec l'observation d'Overton, à savoir que des muscles qui ont perdu leur contractilité dans une solution sucrée, la récupèrent rapidement si on les immerge dans une solution de sel de cuisine. Il semblerait donc, dit Höber, que le sucre serait moins nuisible pour les muscles que pour les globules rouges.

Répartition du sucre sur les cellules et leur milieu ambiant. — Rona (3) a comparé de nombreuses analyses faites sur la contenance des globules et du plasma sanguins en sucre de raisin ; il a constaté que les proportions de sucre étaient très différentes dans les globules et dans le plasma. Il a même noté qu'il n'était pas rare que le plasma contint des quantités notables de sucre, alors que les globules n'en contenaient pas du tout.

Höber conclut (page 242) « que les résultats des analyses chimiques confirment l'opinion suivante fondée sur les expériences d'osmose : c'est que les cellules sont imperméables même aux substances qui jouent un rôle important dans leur entretien ».

Répartition des sels. — Nous avons vu plus haut (pages 79 et 80) que, selon Bang, les globules sanguins étaient perméables aux sels du sérum, mais que l'on ne pouvait constater cette perméabilité qu'en immergeant les globules dans une solution exempte de sels. Höber (page 243), n'est pas de cette opinion. Si l'hypothèse de Bang était vraie, dit-il, on ne comprendrait pas que les globules sanguins contiennent

(1) Urano Zeitschr. f. Biologie 50, 212, 1908. 51 483 ; 1908.

(2) Fahr Zeitscher. f. Biologie 52, 72 ; 1909.

(3) Rona et Takahashi. Biochem. Zeitsch. 30, 100 ; 1910.

Rona et Döblin loc. cit. 31, 215 ; 1911.

des sels minéraux dans des proportions si variables, selon les espèces examinées, alors que le contenu du sérum en sels minéraux varie si peu chez les différents animaux. Ainsi Abderhalden (1) constate que les globules du lapin ne contiennent pas de Na, alors que le sérum en contient de notables proportions. D'autre part, Katz, en analysant les cendres de muscles note que, dans le tissu musculaire, ce sont le potassium et le phosphore qui sont beaucoup plus abondants que le sodium et le chlore, tandis que dans le sérum, c'est l'inverse qui se produit.

Höber s'étonne, qu'en présence de ces faits, quelques auteurs comme J. Lœb et Hamburger, pour interpréter certains phénomènes cellulaires parlent si légèrement d'une libre diffusion des sels minéraux à travers les membranes. Ainsi, pour expliquer que les sels de K paralysent les fibres musculaires et qu'un muscle immergé dans une solution saline hypertonique diminue de volume, J. Lœb admet que l'imperméabilité des muscles aux sels minéraux n'est qu'apparente, ce qui tiendrait à ce que, en réalité, les sels ne pénètrent dans le muscle qu'avec lenteur. Mais, objecte Höber, est-ce que dans ce cas, les muscles et le sérum sanguin n'auraient pas eu amplement le temps, dans le cours de la vie, d'acquérir une composition semblable ? « Et quand on leur (J. Lœb et Hamburger) demande d'expliquer d'où provient cette différence de composition constatée par les faits, il ne leur reste plus, comme porte de sortie, que d'admettre l'hypothèse que les sels sont retenus *dans des combinaisons organiques*, contractées avec des matières albuminoïdes ou autres. Mais, même en admettant qu'une proportion plus ou moins notable de ces sels fût incorporée dans des combinaisons organiques, on ne pourrait comprendre, en acceptant l'idée de leur *libre diffusibilité*, que d'après les recherches d'Urano (2) et de Fahr (3), la substance musculaire elle-même ne contient, très probablement, qu'une quantité pratiquement nulle de sodium » (page 244).

Urano et Fahr (loc. cit.) ont essayé de soustraire à des sartorius de grenouille, tous les électrolytes contenus dans

(1) Abderhalden. Lehrbuch der physik Chem. 2^e édit. 733 ; 1909,

(2) Loc. cit.

(3) Loc. cit.

les espaces interfibrillaires, en lavant les muscles, avec une solution isotonique de sucre de canne. Les expériences d'Urano n'ont pas entièrement satisfait leur auteur en ce sens que le plus souvent les fibrilles elles-mêmes, par suite des lésions que leur avait fait subir la technique opératoire, ont abandonné une partie de leurs sels à la solution sucrée. « Et cependant, dit Höber, il est permis d'en tirer une conclusion sur leur comportement normal. En effet, le suc obtenu par l'expression des muscles préalablement lavés ne contenait plus que des traces de Na, souvent de 50 à 70 fois moins que le suc exprimé hors des muscles frais n'ayant pas été lavés. Au contraire, le suc exprimé hors de ces mêmes muscles contenait encore en K et en Ph la moitié de la quantité contenue dans un muscle frais non lavé. On peut en conclure que le sodium se meut plus librement et diffuse plus facilement hors du muscle que le potassium et le phosphore. Il est à supposer que cela tient à ce qu'à l'état normal, la plus grande partie du sodium se trouve dans les espaces lymphatiques qui entourent les fibres musculaires, tandis que le K et le Ph sont entourés par les membranes plasmatiques.

« Les expériences de Fahr dans lesquelles les cendres des muscles furent directement analysées, ne peuvent pas confirmer cette manière de voir ; car, par suite des précautions particulières prises dans le traitement des sartorius, ces derniers ne perdirent qu'environ 6 p. 100 de leur Potassium dans la solution sucrée, tandis qu'ils perdirent dans le même laps de temps, environ 90 p. 100 de leur sodium.

« Si, après ces expériences, on voulait encore soutenir que les sels peuvent diffuser librement *à travers toute la substance musculaire*, il faudrait, pour les expliquer, avoir recours à l'hypothèse suivante, d'ailleurs sans fondement : c'est qu'à l'intérieur des muscles, il n'existerait, pour ainsi dire pas de solution contenant des sels inorganiques à l'état libre, et que presque tous les sels sont fixés à l'état de composés organiques. Cette hypothèse improbable devrait également s'appliquer à tous les globules sanguins, qui, on le sait, ne contiennent pas de sodium. » (Höber, l. cit., p. 285).

Etat des sels à l'intérieur des cellules. — Nous ne sommes malheureusement que très peu renseignés sur l'état des sels

à l'intérieur des cellules et notamment au sein du protoplasma. Selon Höber, une proportion notable des sels faisant partie du protoplasma doivent y être contenus à l'état libre et en solution vraie, car on peut démontrer que le contenu cellulaire possède une conductibilité électrique assez marquée (1). Mais, ajoute Höber, il faut qu'il existe nécessairement des obstacles à la diffusion de ces sels, sous forme de membranes à perméabilité restreinte (beschränkt permeabler Membranen), à la surface des cellules.

Perméabilité des tissus aux acides et aux bases. — 1° *Les cellules des méduses vivantes sont imperméables à l'acide chlorhydrique et à la lessive de soude.* — Bethe (2) constata d'abord que lorsqu'on ajoute du rouge neutre à l'eau de mer dans laquelle nagent des méduses, ces dernières absorbent la matière colorante et se colorent en rouge orange. Si, maintenant, on verse dans l'eau de mer assez d'HCl pour qu'elle tourne au rouge cerise et pour que les méduses soient complètement paralysées, on constate néanmoins que leur coloration rouge orange demeure intacte ; ce n'est qu'après la mort des méduses que leur couleur tourne au rouge. On peut remplacer HCl par de la lessive de soude ; l'eau de mer tourne du rouge au jaune, mais on peut constater que les méduses gardent, malgré leur paralysie, leur couleur rouge orangé du début. « Bethe conclut avec raison que les cellules des méduses sont imperméables à l'acide chlorhydrique et à la lessive de soude. » (Höber).

2° *La pénétration dans les tissus des acides et des bases est liée à la solubilité de ces substances dans les lipoides.* — C'est ce que montre l'expérience suivante faite par Warburg (3). Cet auteur examine des œufs d'oursin fécondés et colorés en rouge, immergés dans de l'eau de mer additionnée de lessive de soude. Il constate que la consommation d'oxygène se trouve considérablement augmentée par l'addition de la soude, mais que la coloration des œufs reste inchangée (ce qui prouve, remarque Köber, que la lessive de soude n'a

(1) Voir Höber loc. cit. (p. 246-249).

(2) Bethe. Pfl. Arch. 127, 219, 1909.

(3) O. Warburg. Zeitschr. f. physiol. Chem. 66, 305, 1910 et Biochem. Zeitschr. 29, 414, 1910.

pas besoin de pénétrer dans l'œuf pour agir sur la respiration). Si, maintenant, on remplace la lessive de soude par un peu d'ammoniac (qui est soluble dans les lipoïdes), on constate, qu'en une minute, la coloration des œufs passe du rouge au jaune. Cela prouve que les bases agissent conformément à leur solubilité dans les lipoïdes.

Enfin, Hertwig, Herbst et Lœb constatèrent, à la suite d'expériences très concluantes sur les œufs d'oursin, que les acides pénétraient dans les tissus d'autant mieux qu'ils étaient solubles dans les lipoïdes.

Ces expériences confirment la règle établie par Overton, que la solubilité relative dans les lipoïdes décroît à mesure que croît le nombre d'hydroxyles ou de carboxyles dans la substance considérée. Höber ne conteste pas, d'ailleurs, qu'une partie des matériaux inorganiques des cellules y est fixée à l'état de combinaison ; mais on est peu documenté sur cette question, et Höber pense que dans l'explication des faits expérimentaux, il ne faut avoir recours, qu'avec prudence, à la conception des « Protéïdes-ions » (pour employer l'expression de J. Lœb et de Pauli).

Restrictions à l'imperméabilité absolue de la membrane protoplasmique, d'après Höber. — La membrane n'est pas uniquement une membrane lipoïde. — Nous avons vu dans le premier chapitre de notre historique (1), que certains auteurs ne croyaient qu'à une imperméabilité conditionnelle ou temporaire de la membrane protoplasmique. Höber (2), à son tour, ne peut se résoudre à accepter l'idée d'une imperméabilité absolue de la membrane, malgré l'ardeur avec laquelle il défend, dans les pages que nous avons résumées, la théorie d'Overton, et, en dépit des critiques qu'il adresse aux partisans (J. Lœb et Bang), de la perméabilité constante de la membrane. « Il faut, cependant, dit-il, que la cellule soit perméable à beaucoup de substances vis-à-vis desquelles la membrane paraît être incontestablement imperméable dans le cours d'expériences osmotiques ou chimiques. » En effet, Overton avait déjà fait observer que beaucoup de

(1) Voir le chapitre relatif aux généralités sur les phénomènes osmotiques.
Höber, loc. cit. p. 252 et suiv.

substances solubles dans les lipoïdes et, par conséquent, pénétrant dans les cellules, ne jouaient qu'un rôle nul ou tout au plus accessoire dans la nutrition des tissus, alors que les substances les plus utiles, telles que les acides aminés, les sucres et d'autres hydrates de carbone, les sels inorganiques paraissent incapables de pénétrer à travers la membrane, bien que leur présence soit certaine au sein de la cellule. Il en résulterait que la cellule serait perméable aux éléments qui lui sont inutiles, alors qu'elle serait imperméable à ceux dont elle a de plus besoin. Mais si paradoxaux que paraissent ces faits, ils s'expliquent à la réflexion. Les cellules peuvent être, en effet, considérées comme des systèmes chimiques clos, au sein desquels des composés divers réagissent les uns sur les autres, les uns à côté des autres, et enfin les uns après les autres. On conçoit que pendant que s'accomplissent ces multiples réactions, il est indispensable que la cellule soit séparée de son milieu extérieur par une enveloppe qui la protège contre l'entrée et la sortie des substances en solution. Mais, inversement, cette action d'arrêt ne peut pas se prolonger indéfiniment et dans toutes les circonstances. « *La cellule doit posséder, à sa surface, une organisation capable de régler l'entrée de ses matériaux de nutrition et la sortie de ses matériaux d'élimination. Il faut, qu'à un moment quelconque, et à la faveur d'un processus quelconque, la cellule se laisse pénétrer par des substances auxquelles elle paraît impénétrable pendant les expériences d'osmose.* Comme ces substances constituent ses matériaux de nutrition, il faut bien admettre que les conditions réalisées dans le cours des expériences osmotiques, ne sauraient être considérées comme tout à fait normales. » (1). Höber en tire comme conséquence immédiate, que la membrane doit être *quelque chose de plus* qu'une simple membrane lipoïde.

Les réflexions qui viennent d'être faites ont incité certains auteurs à rejeter complètement la théorie lipoïde, ou bien à essayer de réfuter, au moyen d'expériences chimiques, les résultats fournis par les expériences osmotiques. Mais il resterait toujours à expliquer pourquoi, dans les expériences

(1) Höber, loc. cit. 253.

d'osmose, la membrane se montre perméable à certains corps et imperméable à d'autres. Nous nous trouvons là en présence d'un problème du plus grand intérêt. Pour essayer de le résoudre, Höber énumère plusieurs observations qui montrent que la membrane protoplasmique n'est pas uniquement une membrane lipoïde, mais que sa structure doit être plus complexe.

Perméabilité à l'eau. — Conception de Nathanson sur la membrane protoplasmique. — Au premier abord, il est difficile de comprendre comment l'eau peut traverser une membrane lipoïde. Mais, à la réflexion, on conçoit que ce passage puisse avoir lieu, grâce à la présence, dans la membrane, de lécithine. Cette dernière se gonfle au contact de l'eau ; elle est donc perméable à ce liquide. Mais alors, Nathanson (1) fait observer que si la lécithine gonfle dans l'eau, elle devient, par cela même, perméable pour d'autres substances que celles qui sont solubles dans les lipoïdes. C'est précisément ce que l'on peut vérifier avec la plupart des matières colorantes basiques qui colorent la lécithine en solution dans du benzol.

S'appuyant sur ces données, Nathanson esquisssa une théorie selon laquelle la membrane serait perméable à la fois aux corps solubles dans les lipoïdes et à l'eau. Cet auteur se représente la membrane comme une sorte de mosaïque dans laquelle une partie des pierres seraient constituées par la cholestérine ingonflable, donc imperméable à l'eau, mais lipoïde ; tandis que les autres pièces de la mosaïque seraient constituées par des matériaux protoplasmiques qui auraient, d'une façon générale, les propriétés des membranes semi-perméables de Traube. Mais les pièces appartenant à cette seconde catégorie, possèderaient, en plus, dans certains cas, la propriété de régler l'entrée et la sortie des substances les plus diverses, nécessaires au fonctionnement de la cellule. « Cette conception, dit Höber (2), fournirait, en effet, une explication du *comportement passif* des cellules, vis-à-vis des substances solubles dans les lipoïdes, c'est-à-dire de la *per-*

(1) Nathanson. Jahrbuch, f. Wissensch. Botan. 39 607 1904 et Ruhland ibid. 46 1. 1908.

(2) Loc. cit. p. 253.

méabilité physique ; et elle reporterait le problème de l'activité cellulaire, de la *perméabilité physiologique*, sur certains endroits de la membrane. »

Considérations sur la structure de la membrane protoplasmique des globules sanguins (d'après Höber). — On sait que l'hémolyse des globules rouges peut être provoquée de deux manières. Soit par l'action d'une solution saline hypotonique, soit par l'action de substances spéciales, ayant des propriétés hémolytiques. Nous savons également que les globules rouges des différents mammifères, bien qu'ayant à peu près la même pression osmotique, offrent une résistance très différente, vis-à-vis de l'action hémolysante des solutions salines hypotoniques.

Or, Rywosch (1) s'est demandé si la différence de résistance à l'hémolyse, observée sur les globules des différents mammifères, était la même quand on employait des substances hémolysantes, que lorsqu'on employait une solution saline hypotonique. Il fit, alors, la curieuse constatation que voici : c'est que, plus une espèce animale était sensible aux substances hémolysantes (par exemple à la saponine), moins elle était sensible aux solutions salines hypotoniques. « Ceci peut s'interpréter de la façon suivante, dit Höber : la couche limitante des globules rouges contient deux substances dont les proportions réciproques varient avec les différentes espèces animales ; une de ces substances est attaquée par la saponine ; l'autre est altérée par l'augmentation de la pression osmotique interne. »

Enfin, citons les recherches de Pascucci (2) qui analysa le stroma des globules du sang, et trouva qu'ils sont constitués pour un tiers par des lipoïdes (lécithine et cholestérine), ainsi que par une petite quantité d'une substance analogue à la cérébrine, et pour les deux tiers par de l'albumine. D'autre part, Neufeld et Händel (3) ont montré que les hémolysants qui dissolvent uniquement les lipoïdes (comme la saponine et la solanine), ne dissolvent pas complètement les cellules, mais qu'ils laissent subsister un résidu du stroma ; tandis

(1) Rywosch Pfl. Arch. 116, 229 1907.

(2) Pascucci, Hofmeister's Beiträge 6, 543, 1905.

(3) Neufeld et Händel, Arbeiten aus der Kaiserlich. Gesundheitsa. 28 572 1908.

que les hémolysants qui dissolvent à la fois les lipoïdes et les substances albuminoïdes (comme les sels de l'acide gallique), font complètement disparaître les cellules. Si, par conséquent, on découvre dans les résidus des globules, des fragments de la membrane protoplasmique, on peut considérer cette constatation comme étant en faveur d'une constitution hétérogène de la membrane. « Tout cela laisse au moins supposer que la membrane n'est pas seulement une membrane lipoïde, mais qu'elle est encore quelque chose de plus. »

Modifications reversibles dans la perméabilité de la membrane provoquées artificiellement. — *Influence de la température.* — Van Rysselberghe (1), en expérimentant sur des cellules végétales, a constaté que la rapidité de l'endosmose et de l'exosmose de l'eau, ainsi que la vitesse du transit des différentes substances dissoutes à travers la membrane étaient fortement diminuées par l'abaissement de la température et fortement augmentées par toute élévation thermique. Mais Höber fait observer qu'il ne s'agit, dans ces expériences, que d'une influence quantitative exercée par la température. Il ne faudrait pas croire qu'il s'agit ici d'une sorte de perméabilité cellulaire qui ne se produirait qu'à partir d'une certaine température.

Influence des sels d'aluminium et de quelques autres sels sur la perméabilité. — Fluri (2) étudia l'influence des sels d'aluminium, d'Yttrium et de Lanthane sur les cellules de spirogyres et de quelques autres végétaux. Cet auteur constata que des solutions de sulfate de sodium, d'azotate et de tartrate de potassium, de sel marin, de sucre de raisin, de sucre de canne et d'autres substances insolubles dans les lipoïdes cessaient d'exercer une action plasmolysante quand on leur ajoutait de petites quantités d'un des sels terreux cités plus haut, et que les propriétés plasmolysantes réapparaissaient lentement quand on éloignait les petites quantités de sels terreux que l'on avait d'abord ajoutées aux solutions. Fluri conclut que la membrane protoplasmique est rendue perméable par les sels d'Al, d'Y, et de La.

(1) Van Rysselberghe. Bulletin de l'Académie royale de Belgique 173. 1901.

(2) Fluri in Flora 99 81 1908.

Il est d'ailleurs une observation qui concorde avec cette manière de voir, la voici : sous l'influence des sels terreux, l'amidon disparaît à l'intérieur de la cellule. Or, comme on sait, d'autre part, que l'amidon est éliminé quand la concentration en sucre diminue, on peut considérer la disparition de l'amidon consécutive à l'action de *Al*, *Y* et *La* comme la conséquence de l'exosmose d'une certaine quantité de sucre à travers la membrane devenue perméable.

Cependant Fluri fait observer lui-même que sous l'influence des sels terreux, le volume des cellules ne diminue pas comme cela devrait nécessairement se produire à la suite de l'exosmose des substances dissoutes. De plus, Szűcs (1), en se fondant sur des observations directes, relatives à la pénétration de matières colorantes à l'intérieur des cellules, a donné une indication diamétralement opposée aux déductions de Fluri. Szűcs a constaté que les sels d'aluminium diminuaient la perméabilité et ralentissaient fortement les échanges à travers la membrane. Notons que cet auteur étudia les variations de perméabilité à une matière colorante *soluble* dans les lipoïdes : le violet de méthyl. En résumé, Höber ne croit pas que les expériences citées dans ce paragraphe, apportent la preuve certaine que les sels d'aluminium modifient quelque chose à l'imperméabilité normale vis-à-vis des substances insolubles dans les lipoïdes.

Influence de l'acide carbonique sur la perméabilité. — Expérience de Gürber(2). — Cet auteur traite une masse de globules rouges par une solution de *NaCl* fréquemment renouvelée, jusqu'à ce que la solution ne présente plus de réaction alcaline. Par suite de la suspension des globules dans la solution, cette dernière est imprégnée d'une certaine quantité d'acide carbonique. Or, Gürber constate que si on prélève une partie de cette solution de *NaCl* et que l'on en chasse l'acide carbonique, la solution présente une réaction alcaline, tandis que les globules rouges paraissent avoir augmenté leur richesse en *chlore*. L'analyse des globules et de la solution de *NaCl* montra qu'il n'y avait pas eu d'échange d'ions de *K* contre des ions de *Na* entre les corpuscules san-

(1) J. Szűcs. Sitzungsber. wiener Akademie 119. 1^{er} juillet 1910.

(2) Gürber Sitzungsber. der mediz. phys. Gesellsch. 3^e Wurzburg 25 fév. 1895.

guins et la solution de NaCl . Gürber explique ces faits en admettant que l'acide carbonique a libéré une certaine quantité d'acide chlorhydrique hors de la solution de NaCl , et qu'une partie de cet acide a pénétré dans les globules. D'autre part, par suite de la perte en acide chlorhydrique subie par la solution de NaCl , cette dernière, une fois séparée des globules sanguins, devait, après ébullition, présenter une réaction alcaline. Overton ne voit rien à objecter à cette explication. Mais Kœppe (1) croit plutôt que dans l'expérience de Gürber, il y a eu simplement échange entre les ions CO_3^{--} et Cl^- à travers la paroi globulaire, cette dernière étant, d'après Kœppe, facilement perméable aux ions CO_3^{--} et Cl^- alors qu'elle serait imperméable aux ions K^- et Na^- .

En 1902, Hamburger et v. Lier (2) se rallièrent à la manière de voir de Kœppe ; ces auteurs vont même beaucoup plus loin en déclarant que d'une façon générale, les globules étaient perméables à tous les anions. Mais, fait observer Overton, les causes d'erreur sont tellement grandes dans les recherches de Hamburger et v. Lier que l'assertion qu'on vient de lire n'a pas une grande force de conviction. D'ailleurs, l'hypothèse, *qu'à l'état normal*, les globules sanguins seraient constamment perméables à tous les anions, cette hypothèse est contredite par la remarque suivante : c'est que les sérums sanguins de tous les mammifères ont à peu près qualitativement et quantitativement la même teneur en sels minéraux, alors que le contenu des globules rouges en sels a une valeur très inégale chez les différents mammifères ; et cela est vrai, tout aussi bien, pour les ions chargés négativement que pour ceux qui le sont positivement.

Overton fait encore observer que l'hypothèse de Hamburger touchant la perméabilité des globules sanguins à tous les anions ne saurait, en aucune façon, s'appliquer aux autres cellules entrant dans la constitution des tissus, car il serait alors impossible de comprendre que les anions contenus dans les cellules tissulaires, fussent si différents de ceux contenus dans le sang du même animal.

Dans les expériences de Hamburger et v. Lier, on ne cons-

(1) Kœppe Pfl. Arch. 62 et 67.

(2) in Engelmann's. Archiv. 1902.

talait un échange d'anions entre les globules et la solution qui les baignait, que lorsque la masse globulaire avait été préalablement saturée d'acide carbonique, ce qui, très probablement, avait altéré les globules et modifié leurs propriétés osmotiques.

Phénomènes électriques et osmose. — Récemment Höber(1) entreprit de nouvelles recherches sur la perméabilité des globules rouges aux ions. Ces recherches portèrent sur certains phénomènes de cataphorèse, observés sur les corpuscules sanguins. L'idée qui a présidé à l'élaboration de cette méthode est la suivante :

Supposons que les corpuscules sanguins ne soient perméables qu'à une catégorie d'ions, par exemple, aux ions K^+ , ces corpuscules; si on les immerge dans une solution de sucre de canne, abandonneront à cette dernière un certain nombre d'ions K^+ , et il résultera de ce départ d'ions K^+ un léger excès d'anions à l'intérieur des globules. Par conséquent, les globules se comporteront, dans leur ensemble, comme des éléments chargés négativement, et si la chute de potentiel électrique est suffisante, ces globules se dirigeront vers l'anode. Mais si, dès le début de l'expérience, on immerge les globules rouges dans une solution d'un sel de K^+ qui contienne exactement autant d'ions K dans l'unité de volume que les corpuscules sanguins, alors les ions K^+ contenus dans ces derniers ne seront plus sollicités à sortir des globules, et ceux-ci ne seront affectés, dans leur ensemble, d'aucune charge électrique. Si, enfin, les globules sont immergés dans une solution d'un sel de K dans lequel les ions K^+ ont une concentration supérieure à celle qu'ils ont à l'intérieur des globules, ces derniers devront, par suite de l'entrée d'ions K dans leur substance, se charger positivement, et se diriger vers la cathode. Tout ce que nous venons de dire serait également vrai pour tout autre cation que K^+ , de même que pour n'importe quel anion, auquel les globules sanguins seraient perméables.

Höber conclut de ses recherches que les globules sont certainement imperméables aux cations : Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ca^{++} et Mg^{++} ; ainsi qu'aux anions : Cl^- , CO_3H^- , CO_3^{--} ,

(1) Höber Pflug. Arch. 101 1904.

SO⁺— et PO⁺H—. Mais dans un second mémoire (1), Höber déclare que quand la solution dans laquelle sont suspendus les globules, a été saturée d'acide carbonique, les globules deviennent perméables aux anions. Des globules qui s'étaient chargés positivement par suite de la présence d'acide carbonique dans une solution de NaCl à 0,02 pour 100 additionnée de sucre de canne, ces globules devinrent négatifs après que l'on eût chassé, par un courant d'air, tout l'acide carbonique contenu dans la solution qui les contenait. D'après Höber, ces changements dans les propriétés électriques des globules, indiqueraient que les modifications de leur membrane plasmatiche, produites par l'action de l'acide carbonique, sont *reversibles*. Cependant, fait observer Overton, d'autres facteurs doivent entrer en jeu, car on ne comprendrait pas que les anions qui, pendant la période de perméabilité, étaient passés de l'intérieur des globules vers la solution extérieure, pussent rentrer dans les premiers, après que l'imperméabilité de la membrane eut été rétablie.

Malgré cette remarque d'Overton, Höber fit observer très judicieusement « qu'une substance prenant normalement part aux échanges physiologiques, comme l'acide carbonique, et qui entoure les cellules en concentration variable, est capable d'imprimer à la perméabilité de la membrane des modifications réversibles. Et, ici, il semble que nous soyons vraiment en présence d'une *ouverture* de la *membrane* à des substances insolubles dans les lipoïdes, substances dont la pénétration à travers la membrane est liée à la présence d'acide carbonique dans des conditions déterminées » (loc. cit., p. 258).

Nous avons déjà parlé (Chap. I) des recherches de P. Girard sur l'importance de l'état électrostatique de la membrane dans les phénomènes osmotiques. Cet auteur, applique les résultats de ses premières recherches à l'étude des globules sanguins et publia ses nouvelles observations en 1913 (2). Bien que celles-ci n'aient pu être consignées dans l'ouvrage d'Höber qui parut en 1911, nous croyons devoir ouvrir ici une parenthèse et relater les intéressantes observations de P. Girard qui vont, croyons-nous, jeter quelque lumière sur celles d'Höber.

(1) Höber Pfl. Arch. 101 627 1904 et 102 1904.

(2) P. Girard. Comptes rendus de l'Académie des Sciences, N° 18. 5 mai 1913.

Von Limbeck avait déjà noté que dans un sang veineux ou asphyxique riche en acide carbonique, les globules rouges se gonflent malgré l'augmentation du point cryoscopique du sérum. Ce gonflement n'est pas spécifique à l'acide carbonique, mais il est lié d'une façon générale à la présence d'ions H^+ dans le milieu interglobulaire, même quand ce milieu est hypertonique par rapport au sérum. « Ce n'est donc pas seulement de la pression osmotique du milieu intergranulaire que dépend le volume de l'hématie, comme le veut la loi de Hamburger. » Il intervient ici, selon P. Girard (1), le facteur électrostatique dont nous avons parlé plus haut. « On sait, en effet, que la paroi de l'hématie porte dans le sérum et dans des solutions de différents sels neutres une charge électrique négative. La présence d'ions H^+ dans la liqueur intergranulaire atténue considérablement la densité de cette charge et pour une concentration suffisante en inverse le signe. » Il était donc légitime de penser que l'état électrique de la paroi entraînait en jeu dans certains phénomènes osmotiques observés par les biologistes (sécrétion, absorption) et qui ne paraissent pas pouvoir s'expliquer par une simple différence de pression osmotique des liquides en présence. Cette hypothèse semble être confirmée par les faits suivants.

P. Girard examine des globules rouges en suspension dans une solution de saccharose $\Delta = -0^{\circ}60$. Dans cette solution, nous savons que la paroi globulaire a une charge électrique négative. Le volume des globules = 0 mmc. 021, leur diamètre = 5μ .

Si on acidifie cette solution au moyen d'un acide organique quelconque en portant son Δ à $-0^{\circ}64$, la charge de la paroi globulaire s'inverse ; le volume des globules passe de 0 mmc. 021 à 0 mmc. 031, et leur diamètre passe de 5μ à 10μ .

Tous les acides agissent dans le même sens. Parmi ces acides, un intérêt particulier s'attache à l'acide carbonique. La concentration dans le plasma veineux ou asphyxique se traduit par un gonflement très notable des hématies. « Mais ainsi que les lois de l'électrisation de contact formulées par M. Jean Perrin l'avaient fait prévoir, les ions H^+ ne sont pas les seuls actifs de ce point de vue ; les ions positifs trivalents comme les ions métalliques des sels neutres de terres rares permettent, même à de très faibles concentrations, d'annuler la charge négative des hématies ; les ions OH^- au contraire la renforcent, et les ions tétravalents négatifs paralysent l'action des ions H^+ . »

Reprenons maintenant notre solution de saccharose acidifiée $\Delta = -0^{\circ}64$ (solution dans laquelle nous savons que les globules augmentent de volume en même temps que la charge de la paroi s'inverse) et ajoutons-y des ions $FeCy^{+++}$; nous verrons que ces ions qui entravent, conformément aux lois de l'électrisation de contact, l'action des ions H^+ sur la charge de la paroi de l'hématie, en-

(1) Voir page 42.

rayent corrélativement les effets osmotiques liés à la variation de la densité ou du signe de cette charge. « Dans une telle solution de saccharose contenant à la fois des ions H^+ et des ions $FeCy$ — les globules ne se gonflent pas ; leur diamètre reste ce qu'il est dans une solution neutre de saccharose de $\Delta = 0^{\circ}60$, et l'agglutination déjà marquée dans une solution acide est nulle.

« Les différents sels hydrolysables dont les solutions sont acides se comportent absolument comme les acides ; c'est l'ion H^+ qui est actif.

« Dans une solution de saccharose additionnée d'une trace d'un sel de terre rare (Césium ou Lanthane) et dont $\Delta = -0^{\circ}68$, la charge de la paroi globulaire s'annule et le volume des hématies passe de 0 mmc. 029 à 0 mmc. 031 (au lieu de 0 mmc. 021 dans une solution neutre de saccharose de $\Delta = -0^{\circ}60$). La présence de très petites quantités d'ions OH^- dans une solution de saccharose contenant un sel de Césium ou de Lanthane enraye en même temps l'action de ce sel sur la charge électrique de la paroi et son effet osmotique. »

Au lieu de se servir d'une solution de saccharose comme solution initiale, P. Girard s'est aussi servi d'une solution de $NaCl$ à 9 p. 1.000. Mais dans une telle solution, à l'action sur la paroi globulaire des ions H^+ et des ions positifs trivalents des terres rares, s'ajoute celle des ions du $NaCl$. « En fait, l'addition d'ions H^+ et d'ions positifs trivalents de terres rares provoque bien le même comportement osmotique anormal des globules ; mais la concentration en ions H^+ qui suffisait, dans une solution de saccharose, à inverser le signe électrique de la paroi des globules en abaisse tout au plus dans une solution du $NaCl$ la densité électrique. »

En somme, dans des solutions de saccharose hypertoniques à leur milieu habituel, les cellules accroissent notablement leur pression osmotique intérieure et leur volume chaque fois que figurent dans ces solutions des ions capables d'abaisser la densité de la charge de leurs parois normalement négative ou d'en inverser le signe.

Inversement, si l'on ramène par l'action d'ions appropriés la charge électrique à sa valeur primitive, le gonflement osmotique rétrograde aussitôt. Ces faits décèlent à travers la paroi globulaire l'existence de phénomènes d'osmose électrique conditionnés par les deux facteurs dont nous avons parlé plus haut :

1° le champ correspondant à la différence de potentiel dont le septum (ici la membrane cellulaire) est le siège d'une face à l'autre ;
et 2° le signe électrique des veines liquides contenues dans les espaces capillaires ; le sens du glissement de la veine étant déterminé, pour un signe donné de celle-ci, par l'orientation du champ actif indépendamment de la pression osmotique des milieux.

Perméabilité normale de certaines cellules à des substances insolubles dans les lipoides. — Nous venons de voir les modifications qui peuvent être apportées à la perméabi-

lité des cellules, par des procédés artificiels. Mais il existe des cellules qui, dans des conditions normales, sont perméables à certaines substances insolubles dans les lipoides.

Bottazzi (1) fait observer que les animaux marins les plus inférieurs auraient leur milieu intérieur isosmotique à leur milieu extérieur (eau de mer) et que la conductivité électrique des deux milieux est la même. Il en conclut que ces organismes doivent avoir des membranes perméables à toutes les substances contenues dans l'eau de mer. Il croit, par contre, que les animaux supérieurs en organisation, les sélaciens, par exemple, doivent avoir des cellules dont les membranes sont hémiperméables, c'est-à-dire imperméables à certains cristalloïdes. Car leur sang contient plus d'urée et moins de sels minéraux que l'eau de mer, ce qui ne peut s'expliquer d'après Bottazzi que par la semiperméabilité de leur membrane. Cependant, Bottazzi ne pense pas que les membranes ectoplasmiques doivent être considérées comme un revêtement absolument continu des cellules qu'elles enveloppent. Il croit qu'elles présentent des interruptions dans leur étendue et qu'il existe des lacunes par lesquelles certaines substances pourraient être incorporées directement, alors que les membranes resteraient, dans leur ensemble, semiperméables. Ce qui semble démontrer à Bottazzi que la semiperméabilité est une propriété vitale de la membrane, c'est que si on tue cette dernière avec des vapeurs d'éther, de chloroforme ou de fluorure de sodium, la membrane devient immédiatement perméable aux divers cristalloïdes.

On admet généralement que lorsqu'un tissu est immergé dans une solution saline, l'expérience passe par deux phases successives : dans la première, l'eau seule passe de dehors en dedans ; dans la seconde, il y a passage de sels vers l'intérieur du tissu. Lœb expliquait ce fait en admettant un retard dans la diffusion des molécules salines, par rapport à la diffusion des molécules d'eau. Mais Bottazzi croit plutôt que les membranes s'altèrent après un certain temps de contact avec les solutions salines et que le mécanisme, particulièrement délicat qui assure leur hémiperméabilité étant faussé, la membrane devient anormalement perméable.

(1) Bottazzi. *Physiolog. Chemie u. Medezin* de Koranyi et Richter. Leipzig 1907.

Overton, Bethe, O. Warburg et J. Loeb ont montré que les acides forts insolubles dans les lipoides, ainsi que les bases ne pénétraient pas dans les cellules animales vivantes. Or, en opposition avec ces faits, Pfeffer et Rubland ont constaté que ces mêmes substances pénétraient presque instantanément dans maintes cellules végétales.

Les sels se comportent également, vis-à-vis des cellules végétales, d'une façon contraire à la théorie lipoïde. Ainsi Janse (1) et van Rysselberghe (2) ont noté que des cellules de *pirogyras* et des cellules épidermiques de *tradescantias* immergées dans une solution d'azotate de potasse, absorbaient de ce sel au bout de très peu de temps. Osterhout (3) a fait une remarque analogue sur les radicelles de *Dianthus barbatus*. Quand on donne à ces radicelles une nourriture d'abord exempte de calcium et qu'on ajoute ensuite à cette nourriture un sel de calcium, on voit apparaître tout de suite après cette addition, des cristaux d'oxalate de calcium dans les radicelles.

Dans la série animale, bien des épithéliums sécréteurs ou excréteurs s'écartent de la loi habituelle. C'est avant tout pour les cellules du rein, ou plutôt pour les cellules des *tubuli contorti* que cela est vrai. Ces cellules ont la propriété d'emmagasiner de grandes quantités de matières colorantes sulfo-acides et insolubles dans les lipoides, ce qui est impossible à presque toutes les autres sortes de cellules.

Plus récemment, Rona (4) a fait l'observation suivante aussi inattendue qu'intéressante, c'est que si on ajoute du sucre de raisin au plasma sanguin, le sucre pénètre immédiatement dans les globules. Cette observation est d'autant plus frappante que, comme nous avons vu plus haut, les globules sanguins se ratatinent dans une solution sucrée hypertonique, absolument comme s'ils étaient constitués par une solution limitée par une membrane semiperméable. D'ailleurs, Rona avait, lui-même, constaté que le sucre qui est normalement contenu dans le sang était souvent entièrement dissous dans le plasma, alors que les globules n'en conte-

(1) Janse. Versl. der. Konigl. Akad. van Wetensch. Amsterdam 4, 382, 1888.

(2) Van Rysselberghe. Mem. publ. par l'Academ. royale de Belgique 58 1899.

(3) Osterhout Zeitschr. Physik. Chem. 70 II 408 1909.

(4) Rona et Doblin. Biochem. Zeitschr. 31 215 1911.

naient pas du tout. On peut donc se demander si la pénétration rapide du sucre dans les globules, telle qu'il l'a constatée dans sa récente expérience, peut-être réellement considérée comme un acte osmotique ordinaire comparable à la diosmose d'une substance quelconque, soluble dans les lipoïdes, ou bien s'il ne s'agirait pas plutôt d'un processus spécial déclenché par l'arrivée soudaine du sucre dans le sang. Dans tous les cas, il ressort des expériences de Rona que le sucre ajouté au sang ne se partage nullement d'une façon égale entre les globules et le plasma, mais que les premiers, en absorbent tantôt plus, tantôt moins, quelquefois même (bien que rarement), pas du tout. Ce qui est curieux, c'est l'indépendance des globules et du plasma quant à leur richesse en sucre.

Voici encore un fait observé par Rona et Takahashi (1) qui confirme ce que nous venons de dire. On sait que Cl. Bernard avait noté l'augmentation de la proportion de sucre contenue dans le sang, à la suite de saignées successives. Or, il résulte des chiffres fournis par Rona et Takahashi, qu'après les saignées, le pourcentage de sucre augmente dans le plasma, tandis qu'il diminue dans les globules. Voici les chiffres fournis par ces auteurs.

Proportions du sucre dans :

	le sang ;	le plasma ;	les globules ;
1 ^{re} saignée.....	0,157 ‰	0,158 ‰	0,157 ‰
2 ^e saignée.....	0,170 ‰	0,203 ‰	0,135 ‰
3 ^e saignée.....	0,203 ‰	0,393 ‰	0,04 ‰

Et pourtant, fait observer Höber, il ne faudrait pas en conclure que l'inégale répartition du sucre sur les éléments du sang, fût un argument décisif contre l'hypothèse de simples phénomènes osmotiques. L'inégalité de la répartition du sucre se rapporte peut-être à autre chose. Il ne faut jamais perdre de vue que le comportement habituel des globules sanguins, ainsi que les nombreux phénomènes osmotiques dont nous avons parlé, impliquent nécessairement l'entrée en

(1) Rona et Takahashi. *Biochem. Zeitschr.* 30 99. 1910.

jeu de processus plus complexes que ceux que nous connaissons et qui demandent de nouvelles recherches.

Perméabilité physique passive et perméabilité physiologique active. — En somme, nous venons de voir qu'il existe déjà un nombre important de faits montrant que, dans certaines conditions artificiellement créées, les cellules peuvent s'ouvrir à des substances insolubles dans les lipoides, ce qui tient, en grande partie, à ce que, par elles-mêmes, les cellules sont perméables à ces substances. Si on ajoute à ces faits qu'il est au moins *possible* que toutes les cellules soient perméables à celles des substances insolubles dans les lipoides qui leur servent de nourriture, on sera bien près de se demander à quoi peut bien servir la théorie lipoïde.

Cette théorie ne serait-elle pas tout à fait superflue, puisque la solubilité ou l'insolubilité d'une substance dans les lipoides ne constitue nullement un facteur décisif pour la pénétration de cette substance au sein de la cellule ? Et, en fait, les adversaires de la théorie lipoïde font observer que les cellules ayant, par suite de leur activité vitale, la faculté soit de se former, soit de s'ouvrir à *n'importe quelle substance*, elle n'a nullement besoin d'être revêtue à sa surface de matières lipoides, pour devenir perméables à certaines substances (1). Et voilà la théorie lipoïde, réduite à néant. Mais à tort ! ajoute Höber.

Il importe, tout d'abord, de faire observer que toute cellule est perméable à tout moment, aux substances lipo-solubles. Les cellules ne peuvent donc jamais se fermer à ces dernières. Elles leur sont, en quelque sorte, abandonnées et doivent, se soumettre passivement aux lois physiques de la diffusion : cela est vrai tout aussi bien pour les cellules des algues que pour les cellules des végétaux supérieurs, pour les cellules ovulaires, les globules sanguins, les cellules des muscles, des reins, etc. Il s'ensuit que les substances solubles dans les lipoides sont incapables de servir à la régulation de la turgescence de la cellule. Cette turgescence est réglée bien plutôt par les substances insolubles dans les lipoides contenues dans le suc cellulaire, comme le sucre de raisin, le sucre de

(1) Voir Ruhland. Jahrbuch f. Wissenschaftl. Botanik 46. 1. 1908.

cane, les sels. Ces substances sont retenues par la cellule et sa membrane, contrairement à ce qui se passe pour les substances solubles dans les lipoïdes qui, elles, ne peuvent accomplir de fonction *régulatrice*.

La théorie lipoïde nous amène donc à cette conclusion, c'est qu'il existe une perméabilité cellulaire *physique, passive*. A côté de cette perméabilité passive, il en existe une autre, *active, physiologique*, et qui se distingue de la précédente en ce qu'elle n'est pas continue. Vis-à-vis des substances *lipo-insolubles*, les cellules sont donc tantôt perméables, tantôt imperméables, certaines cellules plus ou moins que les autres. Dans la plupart des expériences faites jusqu'à ce jour, les cellules se sont montrées fermées aux substances lipo-insolubles ; si cela n'avait pas été le cas, il n'eût jamais été question de la théorie lipoïde, ni d'une perméabilité physique distincte d'une perméabilité physiologique, ni enfin de cette conception qui fait de l'assimilation et de l'élimination normales de la cellule, un processus actif lié au fonctionnement de cette dernière. Mais, comme nous sommes obligés d'admettre comme postulat que les cellules (ne fût-ce, par exemple, que pour s'alimenter), doivent nécessairement être perméables, à un moment quelconque, à des substances lipo-insolubles, nous devons nous demander comment il se fait que dans les conditions expérimentales réalisées par les auteurs, la cellule se soit montrée le plus souvent imperméable aux corps lipo-insolubles.

Il y a à cela, dit Höber, trois raisons qui doivent être envisagées. On peut se demander, tout d'abord, si ce n'est pas une erreur d'affirmer que tant de cellules, parmi celles examinées, sont réellement imperméables aux substances lipo-insolubles. Peut-être ces dernières pénètrent-elles tout de même dans les cellules, mais avec beaucoup plus de lenteur que les substances lipo-solubles, de sorte que leur pénétration, vérifiable par l'analyse chimique, ne l'est pas par des expériences osmotiques. Si tel était le cas, nous n'aurions plus besoin d'avoir recours à l'hypothèse d'une endosmose *active* des substances nutritives conditionnée par une membrane plasmatique vivante, à structure plus ou moins complexe.

En second lieu, il est possible que dans les expériences

osmotiques qui ont été faites, les cellules n'aient pas été examinées dans des conditions normales de perméabilité, mais dans des conditions pathologiques dues, par exemple, à ce que les tissus ont été plongés dans des solutions salines *pures*, c'est-à-dire dans un milieu très différent de leur milieu normal. Peut-être les cellules sont-elles beaucoup plus perméables dans des conditions physiologiques.

Enfin, en troisième lieu, on peut se demander si la perméabilité des cellules à leurs substances nutritives ne serait pas en rapport avec certains états fonctionnels de la cellule bien déterminés, états fonctionnels dont on n'a pas encore tenu compte dans les expériences d'osmose qui ont été faites.

En ce qui concerne la première hypothèse, s'il fallait admettre que les substances lipo-insolubles pussent pénétrer lentement dans la cellule, on ne s'expliquerait pas pourquoi la composition quantitative des milieux intérieur et extérieur reste toujours si différente. Rappelons-nous, à ce propos, les analyses quantitatives faites sur les muscles, les globules sanguins, et enfin sur l'accumulation d'hydrates de carbone contenus en solution dans le suc cellulaire des végétaux.

Enfin, Höber insiste sur l'importance des expériences faites sur l'excitabilité musculaire. Un muscle de grenouille transporté dans une solution de KCl isotonique, ne change pas de volume (1), mais devient inexcitable au bout de peu de temps. Si on transporte alors ce même muscle dans une solution de $NaCl$, il récupère immédiatement son excitabilité. Overton fait observer avec raison que, dans cette expérience, on ne saurait admettre la pénétration de KCl à l'intérieur du muscle, car, alors, ce dernier aurait dû augmenter de volume (2), et de plus, il aurait fallu, après son transport dans la solution de $NaCl$, un temps considérable pour que le muscle abandonnât tout son KCl à la solution de $NaCl$, afin de récupérer son excitabilité, car il suffit de très petites quantités de KCl pour le paralyser.

La seconde hypothèse que nous avons faite n'est pas plus satisfaisante que la première. Il n'est pas possible que les conditions dans lesquelles les cellules se soient montrées

(1) Nous verrons plus tard que nos expériences nous ont conduit à des résultats différents (H. W.).

(2) C'est le cas, d'après nos expériences; voir 2^e partie de ce mémoire.

impermeables aient toujours été des conditions anormales, pathologiques. Car les résultats fournis par les expériences osmotiques, sont trop souvent d'accord avec ce qui se passe dans l'organisme intact. De même que la composition saline des globules du sang, des muscles et des cellules végétales prouve que ces éléments ont le pouvoir d'empêcher la sortie de leurs sels, — de même les expériences osmotiques prouvent qu'il existe un obstacle à l'entrée des sels dans ces mêmes cellules. Chez les végétaux, l'imperméabilité de la membrane de dedans en dehors trouve son expression dans les phénomènes de turgescence, et l'imperméabilité de dehors en dedans pour les mêmes substances (sels, sucres), se traduit par le phénomène de la plasmolyse.

Il nous reste à envisager la troisième hypothèse, et à nous demander si les variations qui surviennent dans l'état fonctionnel des cellules, n'ont pas pour conséquence des variations dans la perméabilité de la membrane ; et si, par exemple, la constance « non physiologique » (unphysiologische) de l'imperméabilité des cellules, ne tient pas à ce que, pendant toute la durée des expériences d'osmose, les cellules examinées sont au repos. Malheureusement, il n'est guère possible de répondre à cette question parce qu'aucune expérience n'a été faite dans ce sens jusqu'à présent.

Höber croit devoir attirer l'attention sur les deux faits suivants : c'est, d'abord, que parmi les cellules animales, ce sont les cellules épithéliales du rein qui paraissent jouir le plus de propriétés endosmotiques vis-à-vis de certaines substances lipo-insolubles. Or, normalement, ces cellules ont précisément la propriété de réagir par leur activité sécrétoire, contre tout changement dans la composition du sang. Höber fait observer, en outre, qu'après les éléments dont il vient d'être parlé, ce sont les cellules végétales qui sont douées, le plus souvent, de perméabilité physiologique ; cela tient, sans doute, à ce que, pour garantir leur existence, les cellules végétales sont obligées de répondre à la moindre perturbation osmotique, par la régulation de leur turgescence (1).

(1) Voir Van Rysselberghe. Mem. de l'Académie roy. de Belgique 58 1899 et Pantanelli : Jahrb. für. Wissenschaft. Botanik 40. 304, 1904.

Les seules expériences qui démontrent, sinon l'ouverture de la membrane plasmique, du moins une augmentation de perméabilité aux substances lipo-insolubles, sous l'influence de l'état fonctionnel de la cellule, sont celles qui ont été faites par Lepeschkin (1) et Tröndle (2). Ces savants ont montré, par des expériences plasmolytiques, que certaines cellules végétales perméables au nitrate de potasse et au chlorure de sodium, augmentaient leur perméabilité aux sels à la lumière et la diminuaient à l'obscurité. D'après Tröndle, l'influence de la lumière sur la perméabilité est au service de l'assimilation. A la lumière, les produits d'assimilation et, en particulier, le sucre de raisins, s'accumuleraient en trop grande quantité et arrêteraient ainsi leur assimilation, s'il n'existait pas un facteur agissant dans le sens opposé.

D'après ce qui vient d'être dit, il serait intéressant de commencer des recherches systématiques sur les cellules les plus variées, dans le but de saisir l'influence du fonctionnement cellulaire sur la perméabilité de la membrane. Il ne faut d'ailleurs pas croire que l'augmentation de perméabilité ayant été constatée, cette dernière doive se manifester indifféremment pour toutes les substances lipo-insolubles. Il est très probable, au contraire, que la perméabilité de la membrane plasmique aux substances lipo-insolubles est élective. Ceci semble ressortir de ce fait, que beaucoup de cellules (surtout parmi les cellules végétales), montrent une prédilection marquée pour l'assimilation de certaines substances lipo-insolubles bien déterminées.

Conclusions de Höber sur la théorie lipoïde. — Il faut admettre que le transit physiologique dans les deux sens à travers la membrane plasmique est le résultat d'un processus compliqué, encore incomplètement analysé, lié à l'activité cellulaire, et qui se déroule à la surface des cellules, dans la membrane plasmique. Ce processus ne se déclenche généralement que sous l'influence de certaines conditions, d'ailleurs insuffisamment connues.

(1) Lepeschkin. Ber. der. deutsch. botan. Gesellsch. 26 a 1908 et Beihefte zum botan. Zentralbl. 24 I. 308, 1910.

(2) Tröndle. Ber. d. deutsch. botan. Ges. 27 71. 1909 et Jahrb. zur wissenschaft. Botanik 48, 171, 1910.

Pour concevoir une activité de ce genre de la part de la membrane, on est obligé d'attribuer à cette dernière une organisation complexe. Dans sa structure, il se rencontre, entre autres matériaux, des substances lipoides, grâce à la présence de ces dernières, les cellules sont perméables à un grand nombre de substances qui, en général, ne jouent qu'un rôle secondaire ou nul dans la vie cellulaire.

Si on admet ces conclusions, on voit que l'importance des lipoides sur les phénomènes physiologiques est singulièrement diminuée ; mais, en revanche, leur rôle apparaît clairement dans les processus pharmacologiques et toxicologiques. Car, en ce qui concerne les lipoides, « nous nous les représentons comme si les cellules les avaient rencontrés par suite d'un malheureux hasard et s'en étaient servi pour la construction de leur enveloppe, sans se douter qu'elles allaient s'exposer à l'action de toutes sortes de substances solubles dans les lipoides, mais dangereuses pour leur existence ». Le principal mérite d'Overton est d'avoir montré que l'assimilation et l'élimination normales de la cellule constituent des phénomènes vitaux compliqués et qui devront être analysés dans l'avenir. Le chemin qui doit conduire à la solution de ce problème a été un peu aplani en ce sens que, grâce à Overton, nous avons déjà appris à distinguer la perméabilité physique de la perméabilité physiologique.

Parmi les questions qui se posent actuellement, une des plus intéressantes est de connaître les modifications qui doivent se produire dans la membrane pour que cette dernière laisse passer les substances lipo-insolubles qui doivent, par exemple, servir à la nutrition de la cellule.

Overton (1) a déjà émis une hypothèse à ce sujet. Il suppose qu'au moment où les lipo-insolubles doivent pénétrer dans la cellule, ces substances subissent, au contact de la membrane, des réactions chimiques préconditionnées par la nature de la cellule, et qui transformeraient les substances lipo-insolubles en substances lipo-solubles. C'est ainsi, par exemple, que le sucre devient lipo-soluble quand il est plusieurs fois acétylé. On peut aussi supposer que ce soit la

(1) Overton. Pflug. Arch. 92 228 1902.

Nagel's Handbuch, der physiologie der Menschen 2 825. 1906.

membrane qui se modifie sans que la substance elle-même soit modifiée. Les expériences révélant une augmentation reversible de perméabilité, par suite de la présence d'acide carbonique, ou de sels alcalins et alcalino-terreux, font supposer que les colloïdes qui participent à la constitution de la membrane plasmique, jouent ici sûrement un rôle. Cependant, ajoute Höber, nous ne pouvons faire que des suppositions. Dans tous les cas, la membrane plasmique doit être considérée comme un substratum, en grande partie, extrêmement malléable, capable de réagir, et sont aussi actif que l'intérieur même de la cellule. C'est pourquoi il ne faut pas croire que parce que le contact d'une substance avec la cellule aura modifié son état fonctionnel, il s'ensuive *ipso facto*, que la substance en question ait pénétré dans la cellule. Quand Hamburger et de Haan (1) constatent que NaBr modifie l'état fonctionnel des leucocytes et en déduisent que les ions Br ont pénétré dans ces derniers ; quand J. Lœb et d'autres physiologistes prétendent que les modifications fonctionnelles apportées par différents électrolytes tiennent à des modifications dans l'équilibre des ions contenus à l'intérieur des cellules influencées, tous ces auteurs s'appuient sur des prémisses qui ne sont nullement fondées. L'expérience de Warburg montre, en effet, qu'un électrolyte comme l'hydrate de sodium peut modifier profondément les phénomènes d'oxydation à l'intérieur de l'œuf, sans pénétrer dans ces derniers ; et, du même coup, cette expérience met en relief la répercussion des processus qui se déroulent à la surface de la membrane sur toute la vie cellulaire. (D'après Höber).

Théorie de Mayer et Schaeffer (2). — Ce qui caractérise la manière de voir de ces auteurs, c'est qu'ils envisagent le problème des échanges cellulaires au point de vue *statique*, au lieu de l'envisager comme tous les autres auteurs, au point de vue *dynamique* (3).

(1) Hamburger et de Haan. *Biochem. Zeitsch.* 24 309. 1910 ; et *Arch. intern. de Physiologie* 10 1. 1910.

(2) Mayer et Schaeffer. *Journal de Physiologie et de pathologie général.* 1914.

(3) L'argumentation serrée de ces auteurs, et l'extrême concision de leur style font qu'il nous a été impossible de résumer leur important mémoire en quelques lignes. C'est pour laisser toute sa valeur à leur théorie que nous allons faire un si large emprunt au *texte même* qu'ils ont publié.

Mais ici, se pose une question préalable : comment envisager les échanges cellulaires au point de vue purement statique, si le protoplasma est séparé du milieu ambiant par une membrane ? Nous laissons répondre MM. Mayer et Schaeffer :

« L'existence (1) même de cette membrane n'est pas certaine. Si elle a paru indispensable aux botanistes, il s'en faut que son existence soit rigoureusement démontrée dans toutes les cellules animales. A la vérité, on peut toujours dire que la membrane dont il s'agit n'est pas une membrane au sens anatomique, histologique du mot, mais une couche périphérique dont la composition serait différente de celle du protoplasma, et qui pourrait être aussi mince que les pellicules étudiées par Plateau, ou par Duhem et ses élèves ; en somme, une simple couche limitante externe. Quoiqu'il en soit, quelques auteurs pensent que l'existence d'une telle membrane même, n'est pas indispensable ; qu'on peut se représenter, sans son intervention, le mécanisme des échanges, en particulier des échanges d'eau. Il suffit, pour cela, de prendre en considération les propriétés physico-chimiques des substances constituant le protoplasma lui-même, et en particulier de celles qui se trouvent à l'état colloïdal.

« *Colloïdes cellulaires et pression osmotique.* — On sait que les colloïdes organiques sont susceptibles de contracter, avec les électrolytes, des combinaisons que la plupart des auteurs considèrent comme des combinaisons d'adsorption. Les cellules contiennent des colloïdes, en particulier des protéiques, qui peuvent entrer dans des combinaisons de ce genre. Moore et Roaf ont porté leur attention sur le rôle que ces complexes, qu'ils nomment ions-protéides, pourraient jouer dans les échanges. Ils pensent que ces ions-protéides ont une pression osmotique, sont capables d'attirer de l'eau. Leurs variations — dépendant des ions présents dans le milieu — rendraient compte des échanges d'eau entre la cellule et le milieu.

« *Colloïdes cellulaires et imbibition.* — Du moment qu'on réfléchit aux propriétés des colloïdes cellulaires, il y a toute

(1) Mayer et Schaeffer. Loc. cit.

une catégorie de mouvements de l'eau, auxquels on doit penser et qui se réalisent sans que l'existence d'une membrane paraisse les conditionner. Chevreul, Ludwig, etc., ont montré, il y a bien longtemps, que, si l'on plonge dans l'eau des substances desséchées, comme les tendons, la vessie, etc., ces substances se gonflent considérablement. Ce pouvoir d'absorber l'eau est si grand, que Ludwig put déterminer la cristallisation d'un sel, en introduisant une vessie sèche dans une solution presque saturée de ce sel. On a déduit de ce fait l'existence d'une force : la pression d'imbibition, et on a essayé d'en déterminer les lois : on a étudié, par exemple, la vitesse de l'imbibition (formules de Ludwig, d'Hofmeister, etc.), le dégagement de chaleur qui l'accompagne (Wiedemann et Ludeking, Pascheles, etc.).

« Il se trouve que les recherches modernes sur les colloïdes ont éclairé ces anciens faits d'un nouveau jour.

« On sait que toute une catégorie de colloïdes sont stables ou lyophiles, c'est-à-dire capables de contracter, avec leurs solvants, une liaison énergétique : et l'on sait que c'est précisément sur cette propriété qu'est basée la distinction entre gels et sels. Or, la cellule contient précisément des colloïdes stables ou lyophiles. »

« Un certain nombre de chercheurs ont considéré que ce fait constitue une nouvelle et importante condition limitative du mouvement de l'eau, indépendante de l'existence d'une membrane. Ils ont appliqué aux colloïdes cellulaires tout ce qu'on sait de la liaison des colloïdes organiques avec l'eau. *En ce qui concerne en particulier les électrolytes, on sait, par les recherches d'Hofmeister, de V. Henri et A. Mayer, de Biltz, de Pauli, de Spiro, etc., comment ils agissent soit par leur concentration, soit par la nature de leurs ions sur les colloïdes organiques « stables » ou hydrophiles, notamment pour les précipiter. Ils peuvent agir de même sur les colloïdes cellulaires et déterminer ou empêcher leur précipitation, c'est-à-dire modifier leur liaison avec l'eau.* Par cela même, ils peuvent influencer le mouvement de l'eau tout autrement que par leur pression osmotique. C'est le point de vue auquel se place Botazzi ; c'est aussi celui de Martin Fischer. Cet auteur admet que les colloïdes contenus dans les cellules, absorbent plus ou moins d'eau, suivant les électrolytes pré-

sents dans ces colloïdes ou dans le milieu. Parmi les électrolytes, il attribue un rôle prépondérant aux ions H, dus, selon lui, le plus généralement, à la présence d'acide lactique. Quoi qu'il en soit de cette dernière hypothèse, il n'en est pas moins vrai que la position de Martin Fischer est représentative de la façon dont un certain nombre de chercheurs envisagent aujourd'hui le problème du mouvement de l'eau. Ils ont dégagé une nouvelle condition limitative, la présence des colloïdes dans la cellule. Ils en ont déduit l'existence d'une nouvelle force motrice : la pression d'imbibition, force à coup sûr importante, que les recherches sur la pression osmotique avaient fait négliger. »

Constantes cellulaires. Equilibres cellulaires. — Les cellules contiennent des constituants permanents, dont la proportion ne varie pas dans de larges limites ; et Mayer et Schaeffer établissent, par leurs recherches analytiques, que *l'eau est une constante cellulaire pour un tissu donné*. Les cellules de différents types diffèrent entre elles par les proportions différentes de leurs constituants communs ; et chaque constituant grée la cellule des propriétés physico-chimiques qui lui sont propres, et cela, précisément, dans la mesure où il y est lui-même présent.

« *Equilibres cellulaires.* — Des propositions qui précèdent, une autre découle immédiatement. Il y a des constantes cellulaires, et elles se maintiennent à peu près invariables tant que la cellule est vivante ; elles y conservent leurs propriétés. Cependant, certains constituants chimiques de la cellule ont nécessairement des propriétés opposées. Pour que la cellule se maintienne stable, il faut donc que ces propriétés s'équilibrent ; sans cela, la cellule se dissocierait. Nous exprimerons donc d'abord que : 4° *l'existence de la cellule implique un équilibre entre chacun de ses constituants permanents et tous les autres.*

« Or, nous venons de le voir, les propriétés physico-chimiques des constituants les suivent dans la cellule. Nous dirons donc que : 5° *les propriétés physico-chimiques de chacun des constituants cellulaires permanents sont en équilibre avec celles de tous les autres. Les réactions cellulaires, ou ensem-*

ble des propriétés physico-chimiques générales de la cellule, expriment la liaison entre tous ces équilibres particuliers.

« Enfin, la grandeur des propriétés physico-chimiques apportées par chaque constituant cellulaire dépend de sa proportion dans la cellule. Or, ces propriétés peuvent ou bien n'être pas additives, ou bien s'ajouter ou se retrancher. Dans ce dernier cas, les propriétés de la cellule sont la somme algébrique de celles de ses constituants. Cette somme est différente d'un type cellulaire à l'autre. Donc :

« 6° *Les cellules des divers types présentent des réactions communes et les présentent inégalement. Cette inégalité dépend de la proportion relative des constituants cellulaires communs, présents dans les cellules de chaque type considéré. Elle exprime la différence entre les états d'équilibre réciproque de ces constituants.*

« Ainsi donc, supposons que nous ayons dressé une table complète des constituants chimiques cellulaires permanents des constantes cellulaires. D'une part, connaissant les proportions et tous les constituants, sauf un, *nous pourrions prévoir la proportion de celui-là dans la cellule.* D'autre part, connaissant les propriétés physico-chimiques de chacun de ces constituants et sa proportion dans une cellule donnée, *il serait facile d'écrire des équations permettant de prévoir, en grandeur et en signe, les propriétés physico-chimiques de cette cellule elle-même.*

« Sur la Biométrie chimique que nous posséderions, il serait facile d'édifier une *Statique physiologique.*

« Remarquons que ce point de vue nous donne une position particulière dans le conflit qui a divisé jusqu'ici naturalistes et physiologistes. Les uns, frappés de la variété des formes, ont constamment attiré l'attention sur la *spécificité* des cellules, sur leurs propriétés particulières. Les autres, au contraire, ont maintenu l'idée de *propriétés communes* à toutes. Ils ont exprimé cette idée, en disant avec Dastre qu'il y a un protoplasma qu'on retrouve sous toutes les formes comme un même métal fondu dans des moules divers.

« Notre position est différente. Nous disons, nous, comme les naturalistes, qu'il y a des protoplasmas, et, comme les physiologistes, qu'ils ont quelque chose de commun. C'est qu'il y a des *constituants communs* à tous les protoplasmas : ce

sont eux qui créent les propriétés communes ; mais ces constituants sont en *proportion variable*, et c'est ce qui détermine l'ordre de grandeur de ces propriétés. De plus, ces constituants sont en *équilibre entre eux*, et c'est ce qui donne leur réaction propre aux différents types cellulaires, expression de ces équilibres. Et, comme les constituants sont nombreux, que leurs propriétés sont multiples, la diversité possible est considérable.

« Pour reprendre la métaphore citée plus haut, le protoplasma est un alliage de divers métaux, toujours les mêmes, qu'un fondeur habile peut marier en proportions presque illimitées. »

« *Constitution physico-chimique du protoplasma.* — Les constituants chimiques du protoplasma se groupent en trois classes : protéiques, hydrocarbonés, lipoides. De ces classes, tout le monde est aujourd'hui d'accord pour dire que les protéiques et les hydrocarbonés de réserve (glycogène), sont à l'état colloïdal. Ils subsistent, dans le protoplasma à l'état de complexes colloïdaux, comme nous l'ont montré toute une série de recherches. Les complexes albuminoïdes, maintenus en état de solubilité réciproque, *ont avec l'eau une forte liaison* et sont, le plus souvent, à l'état de *gels*. Pour ce qui est des lipoides, au contraire, on sait que s'ils sont mis en suspension, purs, dans l'eau, ils constituent des émulsions à gouttelettes plus ou moins fines. Mais, en présence de protéiques et d'électrolytes, nous avons montré qu'ils peuvent participer à la formation de complexes, faire, eux aussi, partie intégrante de gels. Il est facile de prouver que le fait se trouve réalisé dans les organismes. Il suffit d'éclairer latéralement du sérum d'anguille et du sérum de cobaye pour voir qu'ils sont également transparents, qu'ils présentent le même aspect optique. Or, nous avons montré que l'un contient environ 1 gr. de corps gras par litre, tandis que l'autre en contient 26 grammes, dont 6 gr. de cholestérine insoluble dans l'eau et fondant à 147°. Pourtant, ce dernier ne présente pas la moindre lactescence ; ce n'est pas une émulsion, il est « optiquement vide ». Les complexes colloïdaux de protéiques et de lipoides que nous avons réalisés *in vitro* peuvent donc bien exister dans les organismes et exister à l'état de gels.

« *Structure du protoplasma.* — Ceci posé, comment se représenter la structure du protoplasma, mélange en proportions diverses de ces différents constituants ? Les classiques admettent que le protoplasma comprend une trame albuminoïde qu'ils figurent sous forme de granulations, de filaments ou de réseaux laissant entre eux des lacunes. Cette théorie repose exclusivement sur l'examen des précipités obtenus par les procédés de fixation histologique ; comme l'ont montré les recherches de Hardy et nos propres études ultramicroscopiques (1), les granules, filaments, réseaux sont précisément les formes que prennent les gels albuminoïdes au cours de la précipitation. Et nous avons pu faire voir que le protoplasma a, en effet, toutes les propriétés d'un gel négatif. L'examen ultramicroscopique direct des cellules vivantes confirme cette manière de voir. Par exemple, chez un grand nombre d'animaux unicellulaires, en dehors des parties différenciées et des inclusions, le protoplasma apparaît comme homogène, optiquement vide (Fauré-Frémiet). Nous avons employé l'expression de *gel protoplasmique* pour désigner cette partie indifférenciée du cytoplasma (2).

« Dans ce gel protoplasmique, quelle est la place des lipoides ?

« La plupart des expérimentateurs, considérant les lipoides comme des « réserves » et non comme des constituants protoplasmiques permanents, sont disposés à croire qu'ils sont des « inclusions ». Mais, dans beaucoup de cellules, on ne voit ni inclusions graisseuses, ni granulations biréfringentes. Et pourtant, l'analyse y décèle des lipoides. Ceux des chercheurs qui, comme Overton, attribuent un rôle aux lipoides dans le mécanisme des échanges, les localisent dans la membrane cellulaire périphérique. Les recherches que nous avons faites dans ces dernières années nous conduisent à une conception différente.

« Les cytologistes ont décrit sous le nom de *mitochondries*, des granulations ou filaments répartis dans le protoplasma

(1) En ce qui concerne nos recherches antérieures sur les complexes colloïdaux, l'examen ultra-microscopique du protoplasma et les mitochondries, voir la bibliographie, à la fin de la seconde partie du travail de Mayer et Schaeffer.

(2) Sur notre conception du protoplasma et les discussions qu'elle soulève, voir l'article de Botazzi : « Cytoplasma », in *Handbuch der vergleichenden Physiologie*.

de presque toutes les cellules vivantes, animales ou végétales. Une longue série d'études nous a permis de nous convaincre que ce « *chondriome* » est constitué, pour la plus grande partie, par des éléments lipoides. Ainsi, une grande part des lipoides cellulaires se trouve *non à la périphérie de la cellule ou localisée en des vacuoles, mais bien à l'intérieur du protoplasma*. Sous quelles formes s'y trouvent-ils à l'état frais ? Ce que nous avons vu des complexes d'albuminoïdes et de lipoides, nous permet d'affirmer qu'ils peuvent se trouver mélangés d'une façon parfaite au gel protoplasmique. Dans ce cas, ils n'en seraient séparés que par les réactifs employés pour les déceler. Mais, la stabilité des complexes colloïdaux dépendant de la réaction du milieu, de sa concentration en cristalloïdes, de la nature des ions présents, on peut prévoir qu'il sera possible de trouver dans les cellules des différents types, tous les intermédiaires imaginables entre le gel optiquement vide et les diverses formes de précipités. On peut donc trouver les lipoides soit mêlés au gel, soit dans les granulations cellulaires existant à l'état vivant. Tout dépend des conditions de milieu. La structure du protoplasma nous apparaît comme *résultant de l'équilibre entre tous ses éléments constitutants, y compris l'eau qui est le plus important de tous par la masse* (1) : l'aspect morphologique des cellules dépend, à notre avis, de cet équilibre cellulaire réalisé entre les constituants. *Dans une large mesure, la morphologie cellulaire est conditionnée par la composition cellulaire.* — Les lipoides peuvent donc être, soit mêlés au gel, soit partiellement précipités ; mais, en tout cas, ils sont pour une grande part *intra-protoplasmiques*.

« *Hypothèse directrice sur le rôle des lipoides dans l'incubation.* — « L'exposé très rapide qui précède, de la conception que nos recherches nous ont conduits à nous faire du protoplasma, montre assez qu'elle diffère de la conception classique. Il est naturel qu'elle influe sur la façon dont nous nous représentons la liaison du protoplasma avec l'eau. En effet, pour nous, on n'a pas épuisé toutes les conditions limitatives de cette liaison quand on a dit qu'il existe une membrane et, derrière elle, des colloïdes et des électrolytes

(1) C'est nous qui soulignons. (H. W.)

dissous en solution dans l'eau. Une cellule nerveuse contient 30 0/0 de lipoïdes, une cellule du foie en contient 10 0/0, les hématies 1 0/0. *A priori*, ces différences ne peuvent pas être sans importance sur la liaison de leurs protoplasmes respectifs avec l'eau.

« Quel est, dans ce cas, le rôle des lipoïdes ? Si l'on s'en tient aux notions courantes, on remarque immédiatement que les composés d'acides gras et les substances insaponifiables ne sont pas miscibles avec l'eau. Même les plus simples d'entre eux, les savons, ne donnent pas de solutions vraies, mais des solutions colloïdales.

« D'ailleurs, on trouve fréquemment, dans la littérature, exprimée l'idée qu'il existe un rapport entre la teneur en eau d'organismes entiers et leur teneur en graisse. Mais dirons-nous, en bloc, que les lipoïdes doivent diminuer ou empêcher la liaison du protoplasma avec l'eau ? Nous avons vu que, lorsqu'il considère la membrane, Overton imagine que quelques lipoïdes : les cires et la cholestérine, empêchent la liaison du protoplasma avec l'eau, tandis que les phosphatides sont capables de s'émulsionner, de se gonfler (Thudicum) ? Transporterons-nous cette conception du rôle des différents lipoïdes, de la membrane au protoplasma tout entier ? Nous ne croyons pas devoir le faire.

« En effet, même si l'on admet que les phosphatides et les composés d'acides gras donnent des émulsions stables, il n'en reste pas moins que leur liaison avec l'eau est bien moins grande que celle des albuminoïdes. En fait, c'est eux qui constituent l'*obstacle* à la pénétration de l'eau dans le gel. Considérée seule, la cholestérine, plus encore que les autres lipoïdes, doit, comme le pense Overton, s'opposer à la pénétration de l'eau.

« Mais il se trouve que ce corps a, en outre, une propriété fort importante, sur laquelle il faut attirer l'attention. On sait, depuis longtemps, que les laines brutes non dégraissées sont susceptibles de retenir des quantités d'eau considérables. Cette propriété est due au suint, et on la retrouve, après raffinement de ce produit, dans la lanoline. C'est, en partie, à cette propriété qu'on doit l'introduction de cette substance en pharmacologie. Quoique l'étude chimique de la lanoline ne soit pas encore complète, on sait qu'elle contient

de la cholestérine et des alcools analogues, ainsi que leurs produits d'oxydation. On a pu montrer que c'est à ces composés qu'est due sa propriété d'absorber de l'eau. Les dermatologistes, et notamment Unna, ont montré depuis longtemps que, si on incorpore de la cholestérine à des corps gras non miscibles avec l'eau, elle leur donne la faculté de s'imbiber de ce liquide. Des expériences récentes de Lifschutz et de ses élèves Schreiber et Lénard ont montré que l'oxycholestérine permet d'obtenir des émulsions extrêmement stables de corps ne se mélangeant pas plus avec l'eau que les corps gras, les hydrocarbures (vaseline).

« Si la cholestérine est présente dans toutes les cellules — et on l'a trouvée jusqu'ici dans toutes les cellules vivantes animales ou végétales, — nous pensons que cette propriété doit partout l'accompagner.

« Nous devons donc en tenir compte dans notre hypothèse directrice.

« Cette hypothèse est la suivante : on peut considérer schématiquement le protoplasma comme composé de corps miscibles et de corps non miscibles avec l'eau. Parmi les premiers, si nous ne tenons pas compte des électrolytes, les plus abondants sont les protéiques. Parmi les seconds, nous retiendrons les composés d'acides gras à poids moléculaire élevé, considérés globalement et la cholestérine. Ainsi, le protoplasma nous apparaîtra comme un mélange de quatre constituants : albuminoïdes, composés d'acides gras, cholestérine, eau ; et nous admettrons que ces corps sont en équilibre stable. Quelles sont les proportions nécessaires de ces corps pour que cet équilibre soit réalisé ?

Notre hypothèse est celle-ci : si un gel albuminoïde ne contenait, en plus de l'albumine, que de la cholestérine, celle-ci, insoluble dans l'eau, diminuerait donc la liaison de la masse totale avec l'eau, et d'autant plus, qu'il y aurait plus de cholestérine. De même, plus un gel albuminoïde contiendra de combinaisons d'acides gras à poids moléculaire élevé, moins il sera susceptible de se laisser imbiber par l'eau. *Mais la cholestérine et des composés d'acides gras sont réciproquement solubles ; et le mélange cholestérine + composés d'acides gras qui résulte de cette solubilité réciproque est pénétrable par l'eau. La résistance à l'imbibition*

due aux corps gras, devra donc se trouver corrigée du fait de la présence de cholestérine. Dès lors, plus un gel albuminoïde mêlé de composés d'acides gras contiendra de cholestérine, moins la restriction de l'imbibition due aux corps gras sera marquée et plus le gel s'imbibera d'eau. Nous devons donc trouver une relation entre la quantité d'albuminoïdes, la quantité de cholestérine, la quantité de composés d'acides gras, le rapport $\frac{\text{cholestérine}}{\text{acide gras}}$ ou coefficient lipocyti- que, d'une part, et l'imbibition des cellules par l'eau, d'autre part.

« C'est à l'aide de cette hypothèse directrice que nous allons aborder la question de la teneur en eau des cellules vivantes. »

Nous avons déjà dit que Mayer et Schaeffer établirent que l'eau était une *constante cellulaire*. Leurs analyses, qui portèrent sur la teneur en eau du poulmon, du rein, des muscles, du foie et du cerveau montrèrent que l'eau est *inégalement répartie* entre les tissus ; « la teneur en eau est donc une valeur caractéristique d'un tissu donné, et les tissus se classent toujours dans le même ordre par rapport à cette valeur. Enfin, les tissus homologues, dans diverses espèces, ont une teneur en eau de valeur inégale. »

Ces premiers résultats incitèrent ceux qui les avaient découverts, à rechercher dans quel rapport est la teneur en eau avec les autres constantes cellulaires.

Ils établirent d'abord, pour les différents tissus, ce qu'ils ont appelé *le coefficient lipocyti-que* et qui consiste dans le rapport de la cholestérine aux autres lipoïdes. Or, leurs calculs montrèrent qu'il existe un remarquable parallélisme entre les valeurs de ce rapport et celles de l'imbibition des tissus dans l'organisme. « Il semble que l'imbibition des tissus est *d'autant plus grande* que le rapport $\frac{\text{cholestérine}}{\text{acide gras}}$ ou $\frac{\text{cholestérine}}{\text{phosphore lipoïde}}$ est plus grand. C'est exactement les termes de l'hypothèse que nous avons posée plus haut. »

Mayer et Schaeffer étudient ensuite l'imbibition des tissus, non plus telle qu'elle se manifeste dans l'organisme, mais

telle qu'elle se produit lorsqu'on immerge ces tissus dans l'eau distillée. Ces auteurs notèrent que les tissus ainsi immergés « ont conservé l'ordre relatif qu'ils avaient dans l'organisme. De plus, l'accroissement d'imbibition est proportionnel au coefficient lipocytyque ».

Influence des électrolytes sur les phénomènes d'imbibition.

— Quelle est, maintenant, l'influence des électrolytes sur les phénomènes d'imbibition ?

Ces auteurs constatèrent que les tissus continuent à s'imbiber dans les solutions extrêmement concentrées, et que les phénomènes d'imbibition ont leur physionomie propre pour chaque tissu (1). Ils constatèrent encore que « l'imbibition maxima des tissus, en passant de l'eau pure à des solutions salines de plus en plus concentrées, diminue d'autant plus que leur coefficient est plus élevé. Pour aucun tissu, la chute d'imbibition n'est directement proportionnelle à la seule pression osmotique du milieu, à la concentration des électrolytes. Et le fait que les courbes ne sont pas parallèles montre qu'il doit y avoir interaction entre ces deux facteurs de la teneur en eau : concentration en électrolytes du milieu et teneur des tissus en lipoïdes ».

En ce qui concerne enfin l'influence des ions Na, K et Ca sur les lipoïdes tissulaires, Mayer et Schaeffer constatèrent que chaque électrolyte, chaque ion particulier joue un rôle propre sur chaque tissu. Par exemple, si on compare les imbibitions maxima en présence d'électrolytes à basse concentration ($\frac{N}{11,5}$ ou $\frac{N}{8,2}$) on voit que le muscle est plus imbibé dans KCl que dans NaCl, dans NaCl que dans CaCl² ; tandis que le poumon, au contraire, est plus imbibé dans CaCl² que dans KCl, et dans KCl que dans NaCl.

« L'action des ions peut être assez importante pour inverser l'ordre relatif d'imbibition des tissus. Par exemple, dans CaCl² le cerveau est plus imbibé que le poumon ; dans NaCl, il l'est moins, etc. — Le rôle du calcium paraît particulière-

(1) Nous sera-t-il permis de faire observer que c'est ce que nous avons constaté dès 1913 dans notre communication à la Société de Biologie un an avant la publication du travail de MM. Mayer et Schaeffer.

H. Wessberge. Comptes rendus de la Société de Biologie. T. LXXIV, p. 1.398.

ment intéressant. Si on mesure son action restrictive en la comparant à celle des autres ions, on voit que, dans le cas du poulmon, le calcium restreint moins l'imbibition que K ou Na ; pour le foie, l'action restrictive des trois ions est à peu près équivalente. Enfin, pour le rein, le muscle et surtout le cerveau, l'action empêchante du Ca est très marquée et de plus en plus sur ces tissus, dans l'ordre où nous venons de les énumérer.

« Cette action des différents ions est-elle en rapport avec la composition des tissus en lipoïdes ? Nos expériences sont insuffisantes pour répondre définitivement à la question. Mais il semble bien qu'il en soit ainsi, au moins pour une part. En effet, quand on examine l'action inhibitrice du Ca sur l'imbibition, on voit que cette action paraît *se marquer davantage sur les tissus riches en acides gras*, et dans lesquels le rapport $\frac{\text{acides gras}}{\text{cholestérine}}$ est le plus fort : cerveau, mus-

cle ; inversement, elle est moins marquée sur le poulmon dans lequel ce rapport est faible. Ce fait (qu'il est, à notre sens, extrêmement important d'étudier sur des mélanges synthétiques) est d'ailleurs en rapport avec ce qu'on sait de la précipitabilité des lipoïdes (action des ions bivalents sur les phosphatides ; insolubilité des savons de chaux). *Le calcium aurait — entre certaines limites de concentration — pour effet de diminuer la liaison des lipoïdes, et par suite celle du gel protoplasmique avec l'eau.* »

« D'une façon plus générale, si un certain équilibre des cathions est indispensable pour que la teneur des tissus en eau ne varie pas, il semble que cet équilibre ne doit pas être le même pour tous les tissus, qu'il doit être en rapport avec leur composition et notamment leur composition en lipoïdes.

« Donc, soit que l'on considère la concentration du milieu en électrolytes quels qu'ils soient, soit que l'on considère chacun d'eux en propre, — quand il s'agit de leur influence sur la teneur en eau des tissus, il nous paraît impossible de ne pas tenir compte de la composition de ces tissus, et en particulier de leur teneur en lipoïdes. Le facteur que nous avons dégagé ne nous paraît pouvoir être négligé dans aucun cas. Et nous pensons que son action se fait sentir dans un grand nombre de cas où on n'en a pas tenu compte jusqu'ici.

« En résumé, ayant établi dans la première partie de ce mémoire, que l'eau est une constante cellulaire, et qu'elle est inégalement répartie entre les tissus, nous avons recherché si, *in vivo* cette répartition est en rapport avec les proportions des lipoïdes cellulaires, cholestérine et composés d'acides gras. Nous avons montré qu'il en est bien ainsi en général. Il paraît même que le plus souvent, la répartition de l'eau entre les tissus est fonction de ces proportions.

« Le même phénomène se retrouve *in vitro*, soit qu'on étudie l'hémolyse, soit qu'on étudie l'imbibition par l'eau des tissus normaux ou anormaux.

« Et enfin, quand on examine l'action des électrolytes sur la teneur en eau des cellules, les résultats constatés semblent être dus non pas à leur action seule, mais à une interaction entre les électrolytes et la composition des tissus, notamment en lipoïdes. » (Mayer et Schaeffer).

CHAPITRE IV

Influence des sels minéraux sur le fonctionnement des cellules

§ I. — Généralités

A quoi servent les sels minéraux ? — « On sait, dit Höber (1), que les matières nutritives se composent principalement de substances albuminoïdes, d'hydrates de carbone, de graisses, de lipoïdes, de sels et d'eau.

« L'eau représente le milieu sans lequel la plupart des réactions chimiques qui se produisent au sein de l'organisme, ne pourraient pas s'accomplir. Les pertes d'eau que subit continuellement l'organisme par la peau, les organes respiratoires et les reins, nécessitent son renouvellement constant. Les substances albuminoïdes, les hydrates de carbone et les graisses fournissent, par leur décomposition et leur oxydation, l'énergie latente et l'énergie libérée nécessaires au fonctionnement de l'organisme. Les lipoïdes trouvent leur emploi dans la structure cellulaire, y compris la membrane cellulaire. Seule, l'importance des sels paraît, au premier abord, énigmatique. Le fait que des sels sont éliminés avec différents excréta et secréta, tels que le lait, la sueur, le sperme, l'urine, les fèces, ne résout pas la question. »

Nous savons que les sels sont utiles à l'organisme, et que la quantité nécessaire au développement de ce dernier doit nécessairement augmenter avec le nombre des cellules à mesure que celles-ci se multiplient. Mais tout cela ne nous apprend rien sur la façon dont ils sont utiles. Ce n'est guère que depuis une dizaine d'années que des recherches systé-

(1) Loc. cit., p. 385.

matiques de chimie physique ont jeté quelque clarté sur l'action de certains sels sur des cellules vivantes, et nous ont, ainsi, donné la preuve de l'utilité générale des sels minéraux.

Avant d'entrer plus avant dans le *mécanisme* de l'action des électrolytes sur les cellules, nous allons emprunter à J. Lœb quelques expériences qui mettent bien en relief l'action des sels minéraux sur les tissus. Cet auteur avait observé (1) qu'un petit poisson osseux, le *fundulus*, pouvait être, ainsi que ses œufs, transporté impunément de l'eau de mer (dans laquelle il vit normalement), dans de l'eau distillée, et cela sans subir aucun dommage *ni aucun gonflement*. J. Lœb ne conclut cependant pas à une imperméabilité absolue du *fundulus* et de ses œufs à l'eau ; car une imperméabilité absolue paraît être inconciliable avec la facile pénétration de gaz (O_2 et CO_2) dans l'animal et avec la dessiccation rapide des œufs à l'air. D'ailleurs, la plupart des animaux marins meurent vite, quand on les immerge dans de l'eau distillée.

Dans un récent article paru dans « *Science* » (2), True fait observer que le *fundulus* a un comportement tout à fait atypique parmi les êtres marins organisés. Les algues rouges souffrent (comme le *fundulus*), dans des solutions minérales incomplètes et meurent dans l'eau distillée. Pour qu'elles vivent dans l'eau, il faut que celle-ci contienne un mélange de sels qui, employés seuls, seraient mortels pour les algues.

Si certains organismes peuvent survivre dans l'eau distillée, cela tient, selon R.-H. True, à ce que les premiers contiennent des sels minéraux en assez grande abondance pour pouvoir en céder à l'eau pure qui les baigne. Si, alors, le volume de l'eau est limité, l'eau se transforme par suite des ions qu'elle soutire à l'animal, en eau minéralisée apte à entretenir la vie.

Lœb croit cependant que les membranes doivent être très difficilement perméables aux sels « sans quoi, les sels du sang et ceux des tissus devraient diffuser dans l'eau, ce qui entraînerait la mort de l'animal (3) ». Mais Lœb ne pense

(1) J. Lœb. *Phil. Arch.* 55, 350. 1893 ; — *Americ. Journ. of physiol.* 3, 329 et 383. 1900 ; 6, 411. 1902.

(2) Rodney. H. True. Antagonisme and balanced solutions. — « *Science* », 41 avril 1905.

(3) J. Lœb. *Dynamique des phénomènes de la vie*, p.93.

pas que cette imperméabilité soit absolue. Puisque « les cellules empruntent à leur milieu des sels, et dans certains cas, des sucres, des albuminoïdes, etc., il est évident que toutes ces substances doivent pouvoir diffuser du milieu extérieur à l'intérieur des cellules. Il est donc faux de se représenter les cellules comme entourées de membranes perméables à l'eau et aux substances solubles dans les graisses, imperméables pour toutes les autres - idée qu'Overton a encore émise récemment » (1).

Pour montrer que des sels minéraux peuvent pénétrer dans les tissus, Lœb plonge des œufs de fundulus dans de l'eau de mer, à laquelle il a ajouté des sels de K. Il constate alors que le cœur de l'embryon de fundulus s'arrête de battre. « (2) Si on retire les œufs à temps de cette solution et qu'on les remette dans de l'eau de mer normale, le cœur recommence à battre. »

Les *acides* tuent les œufs et le poisson à une concentration très faible : *ils pénètrent donc dans les tissus*, -

« Il ~~en~~ est de même des *bases*, bien qu'elles soient moins toxiques. »

Nécessité des sels minéraux à l'entretien de la vie. -- Mais si certains sels minéraux peuvent pénétrer dans les tissus, s'ensuit-il qu'ils soient nécessaires à la vie de ces derniers? Voici comment Lœb répond à cette question.

« Il est très remarquable, dit-il (3), que de nombreux observateurs aient trouvé l'eau distillée toxique, même pour les *animaux* d'eau douce. La pression osmotique de l'eau douce est extrêmement faible, plus faible que celle du sang. On a donc accueilli comme une simplification la démonstration de Locke, qui a prouvé que cette soi-disant toxicité de l'eau distillée devait être attribuée au cuivre des appareils, dans lesquels avait eu lieu la distillation. Des traces de sels de cuivre passent dans l'eau distillée, et ce sont ces traces de cuivre qui déterminent les effets toxiques observés : ces effets ne se produisent pas si l'eau a été distillée dans du verre.

(1) J. Lœb, loc. cit., p. 87.

(2) Loc. cit., p. 94.

(3) Loc. cit., p. 102 et 103.

« Il faut signaler, cependant, que cette explication n'est pas vraie pour toutes les formes animales. Bullo^t (1) a montré dans mon laboratoire que de l'eau distillée plusieurs fois et avec le plus grand soin est toxique pour les *gammarus* (2) d'eau douce, que la distillation ait lieu dans du verre d'éna, du platine ou du quartz. Au contraire, si on ajoute à cette eau distillée une trace de NaCl, de manière à obtenir une concentration égale à 0,00008 N ou un peu supérieure, les *gammarus* restent vivants, autant que dans l'eau douce. *Il semble donc que, pour certains animaux d'eau douce, une très faible concentration de certains sels, tels que NaCl est nécessaire* ; tandis que pour d'autres, l'eau distillée est inoffensive. Peut-être ces traces de sels ont-elles une influence sur la perméabilité des membranes cellulaires. »

Les sels minéraux exercent une action spécifique pour chaque sel en particulier. Les proportions dans lesquelles ces sels doivent être présents pour exercer une action optimale sont des **proportions définies**. Si on retire des *gammarus* de l'eau de mer et qu'on les plonge dans de l'eau distillée ou dans une solution de saccharose, ou enfin dans une solution de NaCl, ces solutions ayant la même pression osmotique que l'eau de mer dans laquelle vivait le *gammarus*, ces derniers succombent. Ces faits montrent que les *gammarus* ne meurent pas par suite d'une perturbation des conditions osmotiques survenues dans le milieu ambiant.

Si on prépare une solution contenant du NaCl, du KCl et du CaCl² dans les mêmes proportions que dans l'eau de mer, les *gammarus* vivent plusieurs jours. Si on ajoute à cette solution MgCl², ils vivent aussi longtemps que dans l'eau de mer (3). Si, enfin, on les plonge dans des solutions contenant seulement deux des sels contenus dans l'eau de mer, soit (NaCl + KCl) ou (NaCl + CaCl²), les *gammarus* ne vivent que peu de temps ; il en est de même si on les plonge dans une solution contenant tous les éléments de l'eau de mer sauf NaCl.

Ces expériences montrent que l'absence d'un seul sel peut-

(1) Bullo^t. Univers. of Californie public. Physiology. Vol. I, p. 199, 1904.

(2) Un genre de crevette.

(3) J. Lœb. Pflüger's Arch. T G, p. 394, 1903 ; T Cl, p. 340 1904.

être mortelle. Les sels ne sont pas interchangeable ; ils exercent donc réellement une *action spécifique*.

D'ailleurs, pour que les *gammarus* vivent dans une solution contenant $\text{NaCl} + \text{KCl} + \text{CaCl}^2$, il faut que ces trois sels y soient contenus dans les mêmes rapports que dans l'eau de mer. D'autres expériences faites par Lœb sur le *fundulus*, l'ont conduit au résultat suivant : c'est que les solutions artificielles les plus favorables à la vie de cet animal étaient celles qui contenaient 100 molécules de NaCl , 2 molécules de KCl et 2 molécules de CaCl^2 . Ces proportions paraissent être favorables à d'autres animaux encore.

En effet, « Wolfgang Oswald (1) a étudié récemment la durée de la survie du *gammarus* d'EAU DOUCE dans des solutions plus concentrées que cette dernière. Il a trouvé que la durée de survie est plus grande dans un mélange de 100 mol. de $\text{NaCl} + 2$ mol. de $\text{KCl} + 2$ mol. de CaCl^2 que dans une solution pure de NaCl de même concentration ; résultat qui est en parfait accord que ceux que nous venons d'observer » (2).

Dans des expériences faites sur des œufs d'*oursin*, Lœb constata que lorsque ces derniers étaient plongés dans une solution salée trop diluée, il y avait *cytolysé* ; le même phénomène s'observe quand la solution est trop concentrée. Mais il n'est même pas nécessaire d'élever considérablement la concentration de l'eau de mer pour voir se produire sur les œufs d'*oursins* des modifications cellulaires.

« Si on met des œufs d'*oursins* fraîchement fécondés dans de l'eau de mer, dont la concentration a été élevée par l'addition d'une quantité convenable de NaCl (un peu moins de 2 grammes pour 100 centimètres cubes d'eau de mer), il n'y a pas de division tant que les œufs restent dans cette eau de mer hypertonique. Mais, si on les remet, au bout de deux ou trois heures, dans l'eau de mer normale, on voit l'œuf se diviser, non pas en 2, puis en 4 cellules, mais tout de suite en 4 cellules. Si on laisse les œufs plus longtemps, par exemple de quatre à six heures, dans de l'eau de mer hypertonique, ils peuvent être altérés d'une façon définitive ; mais

(1) W. Oswald, Pflüger's Arch. CVI, p. 568. 1905.

(2) J. Lœb. « Dynamique, etc. », p. 103.

s'ils ne le sont pas, on les voit, dès qu'on les a remis dans l'eau de mer normale, se diviser presque tout de suite en un plus grand nombre de cellules, 8, ou encore davantage (j'ai vu, quelquefois, ces œufs se diviser en 20 cellules ou plus encore) (1). J'ai conclu de ces expériences que, dans de l'eau de mer hypertonique d'une concentration convenable, *la division nucléaire continue, tandis que la division cellulaire est impossible.*

« W. W. Norman (2) a confirmé cette conclusion. Il a observé que dans de l'eau de mer hypertonique d'une certaine concentration, la multiplication des chromosomes continue effectivement » (3).

Il ne paraît donc pas douteux que le fonctionnement *normal* des éléments cellulaires exige, non seulement la présence de *sels minéraux déterminés*, mais encore que ces sels soient présents dans des proportions fixes, ou, du moins, qui ne peuvent varier que dans des limites relativement restreintes.

§ II. — Action des solutions salines pures

Nous allons, maintenant, étudier d'un peu plus près l'action spécifique de quelques solutions salines pures. Mais avant d'aborder ce sujet, il ne sera pas inutile de jeter un coup d'œil sur les relations qui existent entre les électrolytes et les colloïdes cellulaires.

Relations entre les électrolytes et les colloïdes cellulaires. — Il existe, pour le biologiste, un quatrième état de la matière qui caractérise précisément le protoplasma vivant, c'est l'état *demi liquide* ou *solide-liquide*. On a rattaché avec raison cette consistance de la matière vivante à sa richesse en *colloïdes*. Nous allons, maintenant, rappeler un certain nombre de faits qui vont jeter une lumière aussi vive sur l'importance des colloïdes que sur celle des sels minéraux au sein de l'organisme vivant. L'intérêt des uns et des autres repose, en grande partie, sur les relations réciproques qu'ils affectent entre eux.

(1) J. Lœb. Journ. of. Morphology T. VII, p. 253, 1892.

(2) W. W. Norman. Arch. für Entwicklungsmech. III, 106, 1896.

(3) J. Lœb. Dynamique, etc., p. 122.

Colloïdes hydrophiles et colloïdes en suspension. — Précipitation des colloïdes hydrophiles par les électrolytes (1). — On sait que certains colloïdes ont une affinité particulière pour l'eau, et s'unissent avec cette dernière d'une façon si intime qu'ils acquièrent par cela même des propriétés nouvelles qui les distinguent des autres colloïdes, c'est-à-dire des colloïdes en suspension. Les sels neutres exercent une action différente sur ces deux sortes de colloïdes.

1° La précipitation des colloïdes hydrophiles exige une quantité beaucoup plus grande de sels neutres que la précipitation des colloïdes en suspension.

2° Les précipités formés par les colloïdes hydrophiles sont *reversibles* (par lavage à l'eau), tandis que les précipités des colloïdes en suspension sont *irréversibles*.

3° La précipitation des colloïdes hydrophiles est aussi bien sous la dépendance des *anions* que des *cations* du sel neutre précipitant, tandis que la précipitation des colloïdes en suspension dépend exclusivement, soit des *anions* soit des *cations*.

L'influence des anions et des cations sur les colloïdes hydrophiles a été étudiée par Hofmeister (2). Cet auteur a constaté que le pouvoir précipitant des anions sur les colloïdes hydrophiles permettait de ranger les anions dans l'ordre suivant en commençant par ceux dont le pouvoir précipitant était le moins accusé :

$\text{SCN}, \text{I}, < \text{ClO}^3 < \text{AzO}^3 < \text{Cl} < \text{CH}^3.\text{CoO} < \text{So}^1 < \text{Tartr.} < \text{Citr.}$

Ce même ordre de succession des anions ne caractérise pas seulement la précipitation des substances albuminoïdes, mais aussi celle de la lécithine (Höber (3), Porges et Neubauer) (4). Nous la retrouverons dans un grand nombre de phénomènes physiques, physico-chimiques, et physiologiques (5).

D'après Pauli (6), cet ordre de succession se retrouve

(1) Ce qui va être dit sur les colloïdes est emprunté à différents chapitres de l'ouvrage de Höber (Physik. Chem. etc.).

(2) Hofmeister. *Experim. Arch. f. Patholog. u. Pharmak* 28, 210 1891.

(3) Höber. Hofmeister's Beitr. II, 35. 1907.

(4) Porges et Neubauer. *Biochem. Zeitschr.* 7, 152. 1907.

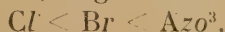
(5) Par simplification de langage nous imiterons certains auteurs anglais, en donnant, dans la suite, à cette série d'anions, rangés dans le même ordre, le nom de « Série d'Hofmeister ».

(6) Pauli. *Ph. Arch.* 78, 315. 1899. — Pauli et Handowski Hofmeister's. Beitr. II, 415. 1908.

encore dans l'influence des sels sur la chaleur de coagulation des albuminoïdes ; des solutions diluées d'électrolytes élèvent leur température de coagulation dans l'ordre suivant :



Enfin, disons que la solubilité de la globuline dans les solutions de sels alcalins, augmente dans l'ordre suivant :



Les *cations* alcalins ont une action peu différente les uns et les autres sur la coagulation de l'albumine de l'œuf, le sérum albumine, et la lécithine. Voici, quand ces cations sont combinés au chlore, leur ordre de succession en allant des moins actifs à ceux qui le sont le plus :



Les anions précipitent les gels dans le même ordre que les colloïdes hydrophiles.

D'autre part, Lillie (1) constata que de petites quantités de sels diminuent la pression osmotique des colloïdes (albumine, gélatine), d'une façon relativement plus marquée que de grandes quantités de ces mêmes sels.

Les anions se rangent toujours dans l'ordre de la « Série d'Hofmeister ».

Influence des acides et des bases sur les colloïdes hydrophiles. — Les acides et les alcalis ont une influence sur la charge électrique des colloïdes hydrophiles.

Les acides leur donnent par leurs ions H^+ une charge positive ; les alcalis, par leurs ions OH^- une charge négative.

Quand les colloïdes hydrophiles ont été préalablement influencés par un acide ou un alcali, les sels alcalins neutres ont leur pouvoir précipitant *augmenté*. D'autre part, la précipitation de l'albumine en flocons qui était réversible avant l'addition d'acide, ne l'est plus après addition de ce dernier (2).

Les sels alcalins terreux Ba, Sr, Ca provoquent dans les solutions de substances albuminoïdes, des précipités irréversibles (3).

(1) American journal of physiology 20, 127. 1907.

(2) Cela n'expliquerait-il pas certaines scléroses des tissus dans les diathèses acides ?

(3) Les plaques d'athérome qui débutent par une précipitation de fibrine sur la tunique interne des vaisseaux sont incrustées de sels calcaires.

La série d'Hofmeister de leurs anions est renversée. Cela tiendrait, d'après Pauli (1), à ce que, dans les solutions d'albuminoïdes non dialysées, les sels alcalino-terreux réagissent par leurs ions COH et POH en libérant des ions H^+ . Ces derniers chargés positivement, inversent la charge électrique primitivement négative, en la rendant positive, ce qui renverserait l'ordre qu'occupent les anions dans la « série d'Hofmeister ».

D'après Porges et Neubauer (2), l'action des sels alcalino-terreux sur la lécithine serait beaucoup plus sensible que celle des sels alcalins.

Influence des mélanges salins sur la précipitation des albuminoïdes. Pauli (3) montra qu'un mélange de Rhodanate de calcium $[\text{Ca}(\text{SCN})^2]$ et de NaCl empêche la précipitation des albuminoïdes, alors qu'ajoutés *séparément* à une solution albuminoïde, ils la précipitent. Cette action d'arrêt du *mélange salin* est fréquente quand on mélange un sel bivalent à un sel monovalent ; mais quand-on fait agir un mélange de sels à métaux monovalents (deux sels alcalins), les actions des sels s'ajoutent.

Influence des acides et des bases sur la pression osmotique des colloïdes hydrophiles. — Si on ajoute à une solution de sérum albumine, de gélatine ou d'hémoglobine une petite quantité d'un acide ou d'une base, la pression osmotique exercée par le colloïde augmente. Ce phénomène est *reversible* ; car si on chasse d'une façon quelconque l'acide ou la base, la pression osmotique revient à sa valeur primitive.

Nous savons que l'addition de *sels alcalins* modifient aussi la pression osmotique des colloïdes hydrophiles, mais d'une façon opposée : ces sels produisent une diminution de la pression osmotique. D'ailleurs, ni les ions des métaux lourds ne peuvent remplacer les ions H^+ des acides, ni les anions polyvalents ne peuvent remplacer les ions OH^- des bases. Il s'agit donc, en ce qui concerne l'action des acides et des bases, d'une *action spéciale* des ions H^+ et OH^- . Il est pro-

(1) Pauli. Hofmeister's Beitr. 5, 27, 1903.

(2) Porges et Neubauer. Biochem Zeitschr. 7, 152, 1907.

(3) Loc. cit.

bable que cette action consiste en un changement dans l'état de dissociation des substances albuminoïdes que l'on peut considérer comme ampholytes (1).

Quand on ajoute, en effet, à un ampholyte ordinaire un acide ou une base, sa dissociation augmente, et cela d'après la loi (2) qui veut que les sels d'acides et de bases faibles soient fortement dissociés. Or, il doit se passer quelque chose d'analogue dans les solutions d'albuminoïdes ; il s'y produit probablement des sels d'albumine, des albuminates, des sels à base d'albuminium (Hardy (3), Sackur (4), Robertson (5)).

Influence des acides et des bases sur la pression d'imbibition (Quellungsdruck). — De petites quantités d'acides ou de bases augmentent la pression de gonflement (pression d'imbibition). Mais les sels alcalins ne diminuent pas la pression d'imbibition comme ils diminuent la pression osmotique. Certains sels alcalins, au contraire, augmentent la pression d'imbibition, comme un acide ou une base (entre autres les chlorures).

Après ces quelques remarques, touchant l'action des électrolytes sur les colloïdes hydrophiles, nous allons être à même de mieux comprendre certaines modifications que ces mêmes électrolytes apportent dans le fonctionnement des cellules.

Action primaire des électrolytes sur les colloïdes de la membrane plasmique. — Tout le monde sait que les sels de métaux lourds, les acides et les bases sont des poisons du protoplasma. Höber croit que dans la plupart des cas, leur action primaire doit s'exercer sur les colloïdes (albumines et lipoïdes), de la membrane plasmique. Quand, une fois, cette dernière est désorganisée, il s'ensuit des actions à l'intérieur de la substance protoplasmique qui, elles, peuvent ne pas s'exercer *exclusivement* sur les matières colloïdes. Höber

(1) Bredig appelle « *electrolytes amphotères* » ou « *ampholytes* » des substances qui peuvent émettre des ions H aussi bien que des ions OH, et qui, par conséquent, sont aussi bien acides que basiques.

(2) Bredig. Zeitschr. f. Elektrochemie 6, 33. 1899.

Winkelblech. Zeitschr. f. physik. Chemie 36, 546 1901.

(3) Hardy. Journal of Physiology 33, 251. 1906.

(4) Sackur. Zeitschr. f. Physik. Chem. 12, 672. 1902.

(5) Robertson. Journ. of physic. chem. 11, 437 et 542. 1907 ; 12, 473. 1908 ; 14, 377 et 528. 1910. — Journ. of biol. chem. 1, 1906 ; 2, 1907.

croît trouver la preuve de l'action immédiate des sels sur les colloïdes de la membrane dans les trois faits suivants :

1° La cataphorèse de cellules entières suspendues dans un milieu liquide dépend exactement, comme celle des particules colloïdales (et en particulier comme celle des colloïdes de la membrane plasmique), des électrolytes contenus dans le milieu ambiant.

2° Les actions des électrolytes sur les cellules paraissent, comme celles qui s'exercent sur les colloïdes être sous la dépendance de leur degré de dissociation, de leur absorbabilité, de la valence de leurs ions, et enfin de leur tension de dissolution.

Enfin, 3° l'action que les électrolytes *fortement dissociés* exercent sur la masse protoplasmique interne, est retardée, comparativement à l'action exercée par les électrolytes *moins fortement dissociés*, mais *lipo-solubles*.

Ce retard tiendrait, d'après Höber, à l'obstacle que constitue la membrane plasmique et qui doit être primitivement franchi (1). Overton et Höber pensent que la toxicité des bases et des acides dépend de ce que certaines de ces substances étant *lipo-solubles*, agissent rapidement, tandis que d'autres substances qui sont *lipo-insolubles* doivent d'abord détruire la membrane protoplasmique. Ce qui corroborerait cette manière de voir, c'est que Warburg a constaté que de la lessive de soude très diluée ne pénétrait pas dans certaines cellules ovulaires, tandis qu'une solution d'ammoniaque (2) peu dissociée y pénètre immédiatement.

Action des sels alcalins sur les globules rouges. — Nous avons vu (chap. II), que Hamburger crut avoir établi que si on dilue des solutions de sels alcalins neutres, juste assez pour que des globules rouges suspendus dans ces solutions commencent à subir une hémolyse, ces diverses solutions sont isotoniques entre elles, quels que soient les anions et les cations qui entrent dans leur constitution, pourvu que leurs concentrations moléculaires soient égales (3). En d'autres

(1) Voir les recherches de Paul et Krönig. Zeitschr. f. physik. chemie 21, 414. 1896. et Zeitschr. für Hygiène 25, 1. 1897.

(2) On sait que l'ammoniaque est liposoluble.

(3) Hamburger in du Bois-Reymond's Archiv. 466. 1886 31, 1887 et Zeitschrift für physik Chemie 6, 319. 1890.

termes, le début de l'hémolyse serait conditionné par le degré d'hypotonie des solutions salines. Mais ceci n'est vrai, dit Höber (1), que si on emploie des solutions suffisamment diluées pour que l'hémolyse se produise très rapidement par suite d'une très forte hypertonie. Si, au contraire, on place des globules dans des solutions salines dont la pression osmotique ne soit qu'un peu inférieure à celle du contenu globulaire, il faut attendre des heures et quelquefois des jours pour que l'hémolyse commence. On constate alors que malgré l'égalité parfaite de pression osmotique affectée par les solutions de différents sels, le temps nécessaire à l'apparition de l'hémolyse varie avec chaque sel employé.

Au point de vue de leur action hémolysante, les anions se rangent dans l'ordre suivant :



Or, c'est exactement dans le même ordre que ces anions se placent lorsqu'on étudie leur action sur les colloïdes hydrophiles : la solubilité de la plupart des substances albuminoïdes et des lécithines, l'imbibition de la gélatine sont favorisées d'une manière croissante en allant de SO_4^2- vers I^- .

Dans les expériences d'Höber sur l'hémolyse, les cations se placent dans l'ordre suivant :



le K ayant la force hémolysante maxima. Höber en conclut qu'à la longue les sels alcalins ont pour action de ramollir, de relâcher la membrane plasmique, constituée par des colloïdes, et, qu'alors, l'hémoglobine peut passer à travers la membrane plasmique qui ne fonctionnerait plus que d'une façon défectueuse. Si cette conclusion est vraie, elle ne nous renseigne guère sur le rôle *physiologique* des sels alcalins. Mais voici d'autres expériences qui vont nous montrer l'utilité des sels minéraux à l'intérieur des tissus.

On se rappelle les recherches de Rywosch sur la résistance des globules rouges aux différents procédés hémolytiques (2). Cet auteur s'était demandé comment se comportaient les globules rouges de différentes espèces animales vis-à-vis de

(1) Höber. Biochem. Zeitsch. 14. 209 (1908).

Voir aussi O. Gros. Arch. f. experim. Patholog. u. Pharmak. 62, 1. 1909.

(2) Voyez page 89.

l'action hémolysante de solutions hypotoniques d'une part, et de la saponine d'autre part. Les recherches l'amenèrent à ce curieux résultat, c'est que plus des globules d'une espèce donnée résistent à l'action hémolysante de l'hypotonie, moins ils résistent à celle de la saponine. A ces résultats, on peut ajouter ceux de Port (1). Cet auteur a constaté que si on dose la quantité d'acide phosphorique contenue dans les globules rouges des différentes espèces animales, ces dernières se rangent exactement dans le même ordre que celui indiqué par leur résistance à l'hypotonie, et par conséquent, dans l'ordre inverse à celui indiqué par leur résistance à la saponine. En d'autres termes, plus les globules contiennent d'acide phosphorique, plus ils sont résistants à l'hypotonie, et moins ils le sont à la saponine.

Hofmeister et Pauli ont montré que l'acide phosphorique agissait sur les colloïdes hydrophiles à peu près comme les acides sulfurique et tartrique, c'est-à-dire comme les acides qui occupent la tête de la série d'Hofmeister. De son côté, Port constata que l'hémolyse était influencée par l'acide phosphorique, à peu près de la même manière que par l'acide sulfurique. Höber conclut du rapprochement de ces faits que l'antagonisme entre *l'hypotonie-hémolyse* et la *saponine-hémolyse* repose sur ce que la membrane plasmique est d'ordinaire d'autant plus résistante qu'elle contient d'acide phosphorique dans sa composition, tandis qu'au contraire, les colloïdes de la membrane plasmique *chargés de saponine* sont d'autant plus instables qu'ils contiennent d'acide phosphorique.

Action des sels alcalins sur des pigments ovulaires. — R. S. Lillie (2) prend des œufs d'oursin (*Arbacia*) et les immerge dans des solutions de différents sels alcalins isotoniques à l'eau de mer. Il constate que le pigment ovulaire abandonne les œufs avec une vitesse *qui varie avec le sel en solution*. Les sels de potassium agissent plus lentement que les sels de sodium.

Parmi les anions, le plus actif est l'iode. Les anions se suivent dans l'ordre suivant:

(1) Port Deutsche Arch. f. Klin. Med. 99, 259 (1910).

(2) R.-S. Lillie. Americ. Journ. of physiol. 26, 106. 1916.

I, SCN, Azo³, Br, Cl,

le chlore étant le moins actif de tous les anions.

Toutefois Höber fait observer que l'expérience de Lillie n'a que des rapports éloignés avec les phénomènes physiologiques normaux qui se passent dans l'organisme. Les modifications de perméabilité cellulaire qui accompagnent ces derniers doivent, très vraisemblablement, être réversibles, tandis que les phénomènes de diffusion comme ceux observés par Lillie ne peuvent guère être que des phénomènes irréversibles. Dans le cours des phénomènes physiologiques normaux, l'augmentation de la perméabilité cellulaire doit être moins accentuée et avoir des conséquences moins graves que dans l'expérience que nous venons de relater. Car lorsqu'on replonge les œufs dépigmentés dans l'eau de mer, leur évolution est troublée ; cela prouve que l'action des sels alcalins a eu encore d'autres conséquences que de provoquer la sortie de la substance pigmentaire.

Influence des sels alcalins sur la parthénogenèse. — Mais voici d'autres expériences faites par R. S. Lillie, dans lesquelles les cellules n'ont pas perdu leur pouvoir fonctionnel. C'est encore sur les œufs d'*Arbacia* que Lillie a fait porter ses recherches. Après avoir plongé pendant un court espace de temps des œufs non fécondés dans des solutions de K ou de Na isotoniques à l'eau de mer, Lillie les remit dans l'eau de mer et constata que les œufs commençaient à se développer par parthénogenèse. Or, l'auteur nota que le temps optimum d'imbibition dans des sels, pour obtenir la parthénogenèse, variait avec chaque sel employé. Ainsi l'iode est l'anion dont l'action est à la fois la plus favorable et la plus rapide sur le développement de l'œuf. Au contraire, les chlorures n'ont, même après un long contact avec les œufs, qu'une action insignifiante sur leur développement. L'ordre dans lequel se rangent les anions est le suivant en commençant par ceux dont l'action est la plus favorable à la parthénogenèse

I, SCN, Azo³, Br, Cl.

C'est le même ordre que celui constaté par Lillie dans ses expériences sur la diffusion du pigment de ces mêmes œufs d'oursin. Lillie attribue également l'influence des sels alca-

lins sur la parthénogenèse, à une augmentation de perméabilité de la membrane.

Höber se rattache à l'opinion de Lillie, et ajoute que l'hypothèse d'une augmentation de perméabilité de la membrane dans les expériences sur la parthénogenèse des œufs d'oursin, peut, seule, expliquer toute une série de faits indiqués par J. Loeb (1). Ainsi les substances qui provoquent la segmentation ovulaire sont principalement toutes les substances cytolisantes : les narcotiques (comme le chloroforme), le benzol, le toluol, l'amylène, l'éther, etc., les savons et les sels de l'acide gallique, la saponine, la solanine et d'autres substances que l'on suppose devoir attaquer les lipoides de la membrane plasmique et parfois même ses albuminoïdes ; les bases faibles ont une action analogue. Quand les œufs sont exposés trop longtemps à l'action de ces substances, ils succombent à des phénomènes cytolytiques, c'est ce qui explique que l'action de ces substances a été considérée comme s'exerçant sur la perméabilité de la membrane.

Action des sels sur le transit de matières colorantes à travers les cellules végétales. — Nous venons de citer des expériences dans lesquelles les sels alcalins agissent en augmentant la perméabilité cellulaire, ce qui a fait dire qu'ils provoquaient une sorte de relâchement de la membrane ; celles que nous allons résumer maintenant (2) montrent que les sels alcalins peuvent exercer une action inverse sur les membranes végétales, c'est-à-dire diminuer la perméabilité cellulaire, ce qui a fait dire qu'ils augmentaient vraisemblablement la densité de la membrane.

Szücs (3) étudie la coloration des cellules de spirogyres par le violet de méthyl, et l'influence de certains sels sur la vitesse de pénétration de cette matière colorante. Il constate qu'en comparant l'action de diverses solutions salines équimoléculaires, les cations exercent une influence spécifique en rapport avec leur valence. Ainsi, parmi les azotates de K^+ , de Ca^{++} et d' Al^{+++} , c'est l'azotate d' Al^{+++} qui *ralentit* le

(1) J. Loeb, Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies, Berlin 1909.

(2) Ces pages sont empruntées au chapitre intitulé « Die Wirkungen einzelner Elektrolyte » dans la « physikalische Chemie » de Höber.

(3) I. Szücs, Sitzungsber. Wiener Akad. 119, 1. juillet 1910.

plus l'action colorante du violet de méthyl, le Ca^{++} moins, et le K^+ beaucoup moins. Les concentrations faibles de ces sels ont une action *relativement* plus marquée que les concentrations fortes. Or, on sait que les protoplastes, comme d'ailleurs les globules rouges, sont des éléments chargés *négativement* ; il en est de même des colloïdes en suspension. Ces corps sont influencés par des ions positifs *et leur valence*. Les *faibles* concentrations agissent d'une façon relativement plus active que les concentrations fortes, parce que les actions électrolytiques sur les colloïdes sont des processus d'*adsorption*, et que ces derniers sont d'autant plus marqués que les solutions sont diluées. Szücs fait observer avec raison que ses expériences rappellent celles de Pelet-Jolivet dans lesquelles les filaments laineux sont colorés par le violet de méthyl, mais dont l'intensité de coloration est affaiblie par l'action des différents cations proportionnellement à la valence de ces derniers.

Influence des ions de chlore sur le système nerveux central. — V. Wyss (1) et Grünwald (2) ont montré par des expériences sur des animaux que lorsqu'on abaissait le taux du NaCl dans le sérum sanguin, les animaux présentaient des phénomènes d'ataxie suivis bientôt de parésie musculaire des membres inférieurs. Si on réintroduit dans l'organisme une quantité suffisante de NaCl , les symptômes régissent et les animaux guérissent. Ce n'est pas au manque de Na qu'est dû le phénomène pathologique observé, mais uniquement au manque de Cl , car si on change le cation du sel en donnant, par exemple, du AzH^+Cl , les animaux guérissent. Si, au contraire, on change l'anion Cl en donnant NaAzO^3 ou Na^2So^4 , les animaux restent paralysés.

Influence des sels alcalins sur les mouvements des cils vibratiles. — Les expériences sur ce sujet ont été faites par Weinland (3) et Höber (4) sur l'épithélium à cils vibratiles du pharynx de grenouille, et par Lillie (5) sur les larves

(1) V. Wyss. Arch. f. experim. Pathol. 55 243. 1906. — et 59, 186. 1908.

(2) Grünwald ibidem. 360. 1910.

(3) Weinland. Pflug. Arch. 58, 105. 1894.

(4) Höber. Biochem. Zeitschr. 17, 518. 1909.

(5) Lillie. Améric. Journal of physiology 17, 89. 1906 et 24, 459 (1909).

Voir aussi Maxwell. loc. cit. 73, 154, 1903.

d'*arenicola* et sur le *mytilus edulis*. Voici quels sont les résultats de ces expériences.

Comme critérium de l'action des différents sels alcalins, les auteurs ont pris la *durée* des mouvements des cils vibratiles.

Les anions se rangent dans l'ordre suivant :

$\text{CH}_3\text{Coo} > \text{So}^4 > \text{Tartr.} > \text{HCo}^4 > \text{Cl} > \text{Azo}^3 > \text{Br} > \text{I}$,
en commençant par l'anion le plus favorable.

L'action des cations est plus difficile à juger ; cependant Höber les range dans l'ordre suivant :

$\text{K, Rb, AzH}^4, \text{Na, Cs, Li}$,

le K étant le cation qui agit le plus favorablement sur les mouvements ciliaires.

Lillie a établi un groupement d'ions qui ressemble à celui d'Höber. On voit que la série des anions concorde parfaitement avec la série d'Hofmeister. Höber pense donc, qu'ici encore, le fonctionnement des cils vibratiles est lié à l'action qu'exercent les sels alcalins sur l'état des colloïdes.

§ III. — Influence des sels minéraux sur l' « excitabilité » et la « contractibilité musculaires »

Contractions rythmiques des muscles squelettiques. — Rôle des sels minéraux à cations monovalents. Lœb entreprit une série de recherches sur un phénomène qui n'avait été que peu étudié avant lui ; nous voulons parler des contractions rythmiques des muscles du squelette.

Lœb fit d'abord cette remarque générale que de telles contractions ne se produisent que dans des solutions d'électrolytes, c'est-à-dire en présence des solutions qui peuvent s'ioniser (1).

Dans les solutions de non électrolytes (urée, sucre et glycérine), ces secousses ne se produisent pas.

Toutes les solutions de *sels de sodium* peuvent les provoquer ; mais l'anion du sel n'est pas non plus sans importance. Ainsi dans NaCl à 7 p. 1000, elles commencent plus tard et sont moins violentes que dans une solution équimoléculaire de NaBr .

(1) J. Lœb, loc. cit., p. 144.

Tous les sels à *cations monovalents* agissent comme les sels de *sodium* ; mais en dehors de cette *action principale* consistant dans la production de contractions rythmiques, tous ces sels ont des *effets accessoires* par suite desquels la *durée* des contractions se trouve modifiée.

Ainsi dans KCl , le muscle se contracte un petit nombre de fois, puis devient inexcitable.

Dans LiCl , les contractions peuvent durer un jour.

Rôle du calcium et du magnésium. — Cependant les secousses rythmiques ne sont pas sous la seule dépendance des sels à *cations monovalents*, dont nous venons de parler.

Lœb a pu établir que les sels de sodium ne provoquaient des contractions rythmiques *que si les cellules musculaires contenaient des ions de Ca à une concentration suffisante*. Dès qu'il y a défaut d'ions de Ca dans les tissus, les ions Na sont incapables de provoquer des contractions rythmiques.

D'autre part, si nous ajoutons à une solution de NaCl des sels de Ca en *trop fortes proportions*, il ne se produit plus de contractions.

« Tout se passe donc comme si la présence d'une certaine quantité d'ions Na provoquait les contractions, mais qu'elles ne soient plus possibles lorsque le rapport des ions Ca aux ions Na devient trop grand ou trop petit. Il semble donc que le muscle ne soit excitable que lorsque le rapport de la concentration des ions Na aux ions Ca : $\frac{C. \text{Na}}{C. \text{Ca}}$ dans son tissu se maintient entre certaines limites. » (1).

Voici, d'ailleurs, quelques expériences qui, selon Lœb, confirment cette manière de voir.

Expériences sur des tissus contractiles séparés de leurs centres nerveux. — Romanes avait observé que lorsqu'on prend une *méduse* et que l'on coupe sa cloche natatoire ou ombrelle, le bord (dans lequel se trouve le système nerveux central), continue à battre, mais non le centre. Les recherches antérieures de Lœb « le firent supposer que c'était la composition de l'eau qui empêchait le centre isolé de se con-

(1) J. Lœb, loc. cit., p. 145.

tracter rythmiquement, et qu'un changement de cette composition devait lui permettre de le faire. Tel est bien le cas. Plaçons les centres isolés de *gonionemus*, hydroméduse de Wood's Hole, dans une solution de NaCl isotonique ou hypertonique vis-à-vis de l'eau de mer, les contractions apparaissent ; ajoutons une quantité *suffisante* d'un sel de Ca ou de Mg , l'apparition des contractions est retardée ou empêchée. Les contractions apparues dans la solution de NaCl pur cessent bientôt pour réapparaître si on ajoute *un peu* de CaCl_2 .

« Ce phénomène laisse supposer que, dans l'eau de mer normale, le centre des méduses contient relativement trop de Ca ou de Mg ; les contractions ne deviennent possibles que si on le met dans une solution pure de NaCl , ce qui élève la valeur du quotient $\frac{\text{C. Na.}}{\text{C. Ca}}$. Mais dès que ce quotient atteint une valeur trop forte, elles cessent et ne réapparaissent que si, en ajoutant un sel de Ca , on abaisse de nouveau la valeur de ce quotient. » (1).

Sur les conseils de Loeb, Lingle (2) étudia les contractions ventriculaires du cœur de la tortue. On sait que le sinus veineux, isolé du cœur, continue à battre comme le cœur entier, alors que le ventricule, isolé du sinus, ne continue pas à battre dans le sang. Le sinus veineux se comporte donc comme le bord de l'ombrelle de la méduse dans l'expérience précédente, et le ventricule comme le centre de la cloche natatoire.

Or, Lingle a constaté que le ventricule peut battre spontanément si on le plonge une demie heure dans NaCl pur. « Il cesse de battre si on le laisse longtemps dans cette solution, — probablement parce qu'il pénètre trop de sodium dans le ventricule. » (3).

D'autre part, avant l'apparition du travail d'Overton, Lingle (4) avait déjà remarqué qu'un lambeau du ventricule du cœur de la tortue ne peut donner des contractions musculaires ni par excitation électrique ni par excitation méca-

(1) J. Loeb, loc. cit., p. 148.

(2) Lingle, Americ. journal of. physiol. T. IV, p. 265 1901 et T. VIII, p. 75, 1902.

(3) In Loeb, loc. cit.

(4) Lingle Science T. XXI, p. 887. 1905.

nique, s'il n'est imbibé préalablement de NaCl . Si ce lambeau de ventricule est mis dans une chambre humide sans avoir été imbibé de NaCl , un courant constant ne provoque pas de contractions rythmiques. Mais si on l'humecte soit dans la chambre humide soit hors de la chambre humide avec une solution de NaCl , le passage d'un courant constant provoque des contractions.

Howel donne une autre explication (1) des contractions ventriculaires dans une solution de NaCl . On sait que Claude Bernard a montré l'action toxique du K sur le cœur. Pour certains auteurs, l'action des sels de K serait antagoniste de l'action des sels de Ca . Or, d'après Howel le muscle cardiaque, immergé dans une solution de NaCl à 7 p. 1000, laisse diffuser une certaine quantité de K . Lorsque la quantité de K diffusée a atteint une certaine proportion, le K qui est resté dans le muscle n'y existe plus en quantité suffisante pour inhiber ses contractions et celles-ci commencent à se manifester. Le temps de *latence* qui sépare le moment auquel on plonge le muscle dans NaCl du moment où les contractions commencent à s'exercer, répond donc au temps nécessaire à la diffusion du K hors du muscle. Puis, l'expérience continuant, il se produit une sortie de Ca . Cette sortie ne survient qu'après celle du K . A mesure que le Ca sort du muscle, les contractions que ce métal favorisait se font de plus en plus rares et cessent quand la quantité de Ca diffusée a atteint une certaine proportion. Telle est l'hypothèse faite par Howel.

Quoi qu'il en soit, « si on retire (2) à temps le muscle de la solution de NaCl , et qu'on le mette un certain temps dans une chambre humide, il peut, s'il est bien fourni d'oxygène, continuer à battre pendant des jours. Aucune autre substance ne peut remplacer le NaCl . Quand on fait battre le cœur avec une solution de NaCl , il continue même si on ajoute un peu de CaCl^2 à la solution. De même, il peut se contracter longtemps dans le sérum si on l'a laissé préalablement une demie heure dans le NaCl pur. Fait remarquable, les contractions rythmiques du ventricule peuvent durer

(1) D'après Boruttau, loc. cit.

(2) J. Lœb, l. cit.

longtemps même dans une solution de NaCl pure, lorsqu'on fait passer sans arrêt un courant d'oxygène pur dans la solution ou quand on ajoute à la solution une trace de H^+O^2 . L'addition d'oxygène agit donc aussi favorablement contre l'intoxication par le NaCl que l'addition de Ca .

Ne se pourrait-il pas que, grâce aux phénomènes d'oxydation qui se passent dans le muscle, le calcium fût mis en liberté dans le tissu musculaire, et que ce calcium libre neutralisât l'action toxique du sodium ? »

Le ventricule cardiaque ne se contracte pas plus que le centre de *gonionemus*, quand on l'immerge dans des solutions pures de *non électrolytes* (sucre).

Lingle a observé que pour que les contractions ventriculaires eussent lieu, il fallait ajouter du NaCl dans des proportions telles que la solution fût composée de 90 centimètres cubes de saccharose $\frac{\text{N}}{4}$ + 10 centimètres cubes d'une solution de NaCl $\frac{\text{N}}{8}$.

« Tout ceci, dit Lœb (1), semble indiquer que la cause des battements rythmiques doit être cherchée dans un échange entre Na (ou K) et Ca (ou Mg), dans certains composés contenus dans le muscle. » (2).

Les sels de magnésie, comme ceux de Ca , empêchent l'action excitante d'une solution de NaCl .

« Comme je le remarquais déjà il y a 6 ans, dit Lœb (loc. cit., page 145), si les muscles de notre corps ne se contractent pas continuellement comme notre cœur, nous le devons aux sels de Mg et de Ca de notre sang. » D'après Lœb, les muscles normaux contiendraient trop peu de Na pour que les contractions se produisissent. Cette opinion est suggérée à

(1) J. Lœb, loc. cit., p. 150.

(2) Il nous paraît intéressant de rapprocher de l'opinion de Lœb, celle de Braitsford Robertson (Pflüger's Arch. T. 110, p. 610, 1905). Cet auteur étudia la façon dont se comportait le cœur de grenouille quand on l'immergeait dans une solution de NaCl à 5,5 p. 1000 à laquelle on ajoutait, dans des proportions variées, des sels KCl et CaCl_2 . Braitsford Robertson conclut de ses recherches que les contractions cardiaques sont conditionnées par les ions contenus dans la solution nutritive. Les battements du cœur se manifestent comme s'ils étaient dus à ce que des anions « bousculassent » périodiquement les cations hors d'une protéide à cations. Il résulterait de là un état instable qui se transformerait avant la nouvelle contraction en un état stable, etc.

Lœb par le fait suivant. Dans une solution de $\text{NaCl} \frac{\text{N}}{8}$, il s'écoule ordinairement un temps assez long (une heure ou plus), avant que les contractions ne commencent. Si, au contraire, on emploie une solution plus concentrée, les secousses commencent plus vite. Lœb en conclut que pour que les contractions se produisent, « il faut (loc. cit.), qu'un certain nombre de molécules de NaCl ou d'ions Na , diffusent dans le muscle ; et que dans le muscle normal, le quotient $\frac{\text{Na}}{\text{Ca}}$ est trop petit pour que la contraction se produise ».

Voici encore un fait qui, selon Lœb, confirme sa manière de voir. L'action inhibitrice du CaCl_2 à haute dose, conduisit Lœb à étudier l'action des sels qui précipitent le calcium, ou qui abaissent la concentration des ions Ca ou Mg libres. Or, il constata que les sels comme l'oxalate, le fluorure, le citrate, le tartrate de sodium provoquaient, à des *concentrations beaucoup moindres*, et beaucoup plus rapidement que le chlorure ou le succinate de sodium, des contractions dans le muscle isolé de grenouille (1).

De plus, quand on plonge le nerf dans une solution de l'un de ces sels, il se développe en lui, avant que les secousses commencent, une augmentation d'excitabilité électrique semblable à celle que provoque le courant galvanique dans la zone *catélectrotonique*.

Mécanisme de l'action des solutions salines. — Comment expliquer l'influence des solutions salines sur les contractions rythmiques ?

Dès 1899, Lœb avait émis une théorie générale sur l'excitabilité, théorie d'après laquelle il supposait « que les métaux ou les ions métalliques étaient liés, dans les tissus,

(1) L'interprétation de cette expérience est facile si l'on admet l'hypothèse de Lœb. En effet, puisque, d'après lui, le quotient $\frac{\text{C Na}}{\text{C. Ca}}$ est trop petit normalement pour que des secousses se produisent, un sel agira d'autant plus vite qu'il augmentera rapidement ce quotient. C'est ce qui se produit avec les sels tels que l'oxalate, le fluorure, etc. de sodium qui diminuent le dénominateur Ca de la fraction $\frac{\text{Na}}{\text{Ca}}$ (par l'abaissement de concentration des ions Ca et Mg , qu'ils produisent), en même temps qu'ils augmentent le numérateur par l'apport de leurs ions Na .

Voir plus loin la note page 147.

(H. W.).

à certaines substances organiques comme les acides gras — ou aussi la lécithine, — ou les corps albuminoïdes, et que la substitution d'un métal à un autre changeait les propriétés physiques de ces combinaisons, par exemple, la tension superficielle, la viscosité, le pouvoir d'absorption d'eau, et l'état d'agrégation.

« Les manifestations vitales et les phénomènes d'excitabilité dépendraient de la présence dans les tissus de certaines combinaisons métallo-protéiques ou de savons métalliques, dans des proportions définies » (1). « Si cette hypothèse est exacte, ajoute Lœb, on peut admettre que toutes les contractions musculaires reposent sur une substitution d'ions Na ou K aux ions Ca ou Mg — ou vice versa (2). On s'explique alors que les sels de sodium si peu importants pour les plantes, soient si indispensables aux animaux. Chez les plantes qui n'ont pas de muscles, le NaCl peut donc manquer. Il en est de même pour le Ca, comme le montre la solution de Raulin.

Cependant, si l'importance du calcium dans la contraction musculaire ne saurait être contestée, le mécanisme exact de son action est plus difficile à interpréter. Les recherches récentes de Lœb sur le *polyorchis* vont nous montrer combien l'interprétation du rôle du calcium est délicate.

Le centre isolé de *polyorchis* (méduse de la Californie), ne présente pas de contractions rythmiques dans l'eau de mer, et sous ce rapport, se comporte donc comme le centre de *gonionemus*. Mais tandis que ce dernier présentait des contractions rythmiques pendant les 2 à 6 premières heures quand on l'immergeait dans une solution de NaCl pure, le centre de *polyorchis* ne présente pas de contractions rythmiques pendant les premières heures, mais les jours suivants, il donne longtemps et à plusieurs reprises des contractions spontanées.

Comment expliquer cette différence entre la réaction du *gonionemus* et celle du *polyorchis* ? et pourquoi le centre de ce dernier ne commence-t-il à battre qu'après une longue pause ?

(1) J. Lœb. Dynamique, etc., p. 144. — Pflüger's Arch. T. LXXV, p. 103, 1899. — American journal of physiol. T. III, p. 337, 1900. — Festschrift für Professor Fick. Würzburg 1899. — W. Pauli, Wiener Akadem. 12 oct. 1899.

(2) J. Lœb. Dynamique, etc., p. 146.

Lœb suppose que les cellules de *gonionemus* possèdent d'avance du calcium en quantité suffisante pour la contraction, tandis que ce n'est pas le cas pour les cellules musculaires de *polyorchis*.

« Dès que les contractions du *polyorchis* ont cessé dans une solution pure de NaCl , on peut, à tout moment, provoquer quelques contractions isolées en mettant au contact de la sous-ombrelle une goutte d'une solution d'un sel de potassium. Mais on ne peut pas obtenir, par ce moyen, des contractions rythmiques et durables. » (1). Pour obtenir des contractions rythmiques régulières du centre isolé de *polyorchis*, il faut ajouter à la solution de NaCl une petite quantité d'un sel précipitant le calcium, du citrate de soude par exemple.

Remarque importante, une trace d'acide agit comme un sel précipitant le Ca , et provoque immédiatement des contractions du centre du *polyorchis*. « L'acide carbonique est suffisant dans ce but » et Lœb suppose « que cet acide qui se forme continuellement dans l'organisme, joue un rôle capital dans la production des contractions rythmiques ».

Une trace d'acide HCl (1 à 2 centimètres cubes d' $\text{HCl} \frac{\text{N}}{100}$ à 100 centimètres cubes d'eau de mer), suffit pour faire battre le centre isolé de *polyorchis*, même dans l'eau de mer. Les alcalis ont une action inverse. Lœb suppose qu'il se passe ici quelque chose d'analogue à l'action des acides, oxalates et citrates dans la coagulation du lait (2) et que les acides font sortir le calcium (et peut-être le magnésium) de leurs combinaisons organiques dans la cellule musculaire en facilitant ainsi l'échange entre Ca (ou Mg) et Na (ou K).

Lœb observa encore un fait fort curieux et qui semble, au premier abord, en contradiction avec ce qui vient d'être dit. « On peut provoquer, avec une sûreté absolue, des contractions rythmiques dans le centre isolé de *polyorchis*, quand on le met dans une solution pure de CaCl^2 , BaCl^2 ou SrCl^2 .

« Au lieu de dissoudre le CaCl^2 dans l'eau distillée, on peut l'ajouter à une solution de sucre $\frac{3\text{N}}{8}$ ou $\frac{\text{N}}{2}$. On a ainsi

(1) J. Lœb. Dynamique, etc., p. 155.

(2) Lœwenhart. Zeitschrift für physiol. Chem. T. XLI, p. 177, 1904.

une solution dont la pression osmotique est plus voisine de celle de l'eau de mer. Dans un mélange de 10 centimètres cubes $\text{CaCl}^2 \frac{3\text{N}}{8}$ + 50 centimètres cubes de saccharose $\frac{3\text{N}}{8}$ les contractions rythmiques peuvent durer trois ou quatre heures. On peut même obtenir les contractions rythmiques avec un centre isolé de *polyorchis* lavé et conservé trois heures dans le saccharose. Dans ce cas, toute l'eau de mer retenue à la surface des cellules a sûrement été enlevée. A vrai dire, les contractions ne durent pas aussi longtemps dans ce cas que dans la solution de CaCl^2 pure, étant donné que l'action toxique du sucre pur se combine avec celle du chlorure de calcium. » (1).

Le BaCl^2 est beaucoup plus actif que CaCl^2 ; SrCl^2 est moins toxique que BaCl^2 et agit plutôt comme CaCl^2 .

« Si notre hypothèse est exacte, dit Lœb (loc. cit.), si l'échange d'ions indiqué est bien la cause des contractions rythmiques, nous avons alors devant nous une contradiction apparente dans le fait que l'addition des sels précipitant le *Ca* agit dans le même sens sur les contractions rythmiques que l'addition d'une petite quantité de *Ca*. Mais, en somme, il n'y a pas là plus de contradiction que dans le cas de la coagulation du lait. Cette dernière est aussi bien facilitée par l'adjonction d'un acide ou d'un sel précipitant le *Ca* que par le *Ca* lui-même. Ce fait s'explique ainsi selon Lœwenhart : le calcium est nécessaire à la coagulation ; mais comme il existe dans certaines combinaisons présentes dans le lait, il peut être mis en liberté soit par les acides, soit par les sels précipitant ou fixant le *Ca*. Il peut bien en être de même pour les contractions du centre isolé du polyorchis ; la formation d'une combinaison calcaïque déterminée serait nécessaire à leur apparition ; mais le calcium nécessaire pourrait provenir, soit de l'extérieur par diffusion, soit de l'intérieur, libéré dans ce cas d'une combinaison par un acide ou un sel décalcifiant. Comme nous le verrons plus tard, les ferments peuvent aussi agir, et cela, en mettant le calcium en liberté. » (Lœb, loc. cit., page 158).

Mais pourquoi, se demande Lœb, le centre isolé ne bat-il

(1) J. Lœb, loc. cit., p. 157.

pas dans l'eau de mer normale ? Cela ne peut être à cause de la présence dans l'eau de mer de CaCl^2 , puisque ce sel produit lui-même des contractions. On pourrait se demander si l'action de CaCl^2 ne serait pas inhibée par NaCl , car une solution de CaCl^2 pure ou de CaCl^2 dans du saccharose provoque des contractions plus sûrement que si on dissout du CaCl^2 dans du NaCl . Peut-être le NaCl empêche-t-il la diffusion de CaCl^2 dans le muscle ? Toutefois, l'action empêchante de NaCl n'est pas absolue, car Lœb a pu observer parfois des contractions du centre isolé de polyorchis dans un mélange de $\text{NaCl} + \text{CaCl}^2$.

D'après cet auteur, ce serait la présence de Mg contenue dans l'eau de mer qui arrêterait les contractions rythmiques. « Si on provoque des contractions du centre isolé de polyorchis dans un mélange de 50 centimètres cubes de $\text{NaCl} \frac{3\text{N}}{8}$ 10 centimètres cubes de citrate de soude N et qu'on le plonge ensuite dans NaCl pur ou une solution de 50 centimètres cubes de $\text{NaCl} + 1$ ou 2 centimètres cubes CaCl^2 , les contractions continuent. Mais si on le met dans une solution de NaCl à laquelle on ajoute *autant de Mg qu'il y en a dans l'eau de mer* (soit un mélange de 100 centimètres cubes $\text{NaCl} \frac{3\text{N}}{8} + 10$ centimètres cubes $\text{MgCl}^2 \frac{3\text{N}}{8}$, les contractions sont empêchées. » (1).

Voici encore une expérience qui met bien en relief l'action de la magnésie. « Mettons le bord isolé de polyorchis dans une solution de 100 centimètres cubes $\text{NaCl} \frac{3\text{N}}{8}$, 2 centimètres cubes $\text{KCl} \frac{3\text{N}}{8}$ et 2 centimètres cubes $\text{CaCl}^2 \frac{3\text{N}}{8}$, il y a tendance à une contraction tonique maximale (systole) qui arrête le jeu alterné des diastoles et des systoles et par conséquent les contractions rythmiques. Ce phénomène est causé par le calcium présent dans la solution. Ajoutons 10 centimètres cubes de $\text{MgCl}^2 \frac{3\text{N}}{8}$: l'arrêt en systole extrême disparaît, et des contractions périodiques régulières se pro-

(1) Lœb, loc. cit., p. 158.

duisent. Le magnésium semble donc favoriser la tendance du muscle à se relâcher et rendre possible ainsi la diastole. Ce fait montre à quel point l'activité rythmique dépend des ions métalliques. » (1).

Mais quelle est la cause du cycle ininterrompu des contractions rythmiques desquelles dépend la vie des animaux supérieurs ?

Pour Loeb, c'est dans la substitution d'ions de Na ou de K aux ions de Ca ou inversement qu'il faut chercher la cause des contractions rythmiques. On sait que certains métaux existent tantôt à l'état de combinaisons dissociables comme c'est le cas pour les électrolytes, tantôt à l'état de combinaisons non dissociables, comme c'est le cas pour le fer contenu dans l'hémoglobine. Une certaine quantité de Ca ferait partie de combinaisons non dissociables par elles-mêmes. Mais ces combinaisons seraient susceptibles de s'ioniser quand « certaines variables physiques seraient changées dans la cellule. »

Or, ces variations physiques seraient sous la triple influence des phénomènes d'oxydation, d'acidification et enfin des phénomènes diastasiques qui se produisent incessamment dans l'organisme. Ces processus, par les variations continuelles de composition chimique qu'ils entraînent, libéreraient de petites quantités de calcium des combinaisons primitivement indissociables où il se trouvait et lui permettrait d'entrer dans des composés dissociables où il pourrait être remplacé par des ions de Na ou de K, ou inversement. « L'acide carbonique formé dans les cellules, peut jouer, notamment, un rôle important dans cette mise en liberté du calcium. » (2).

Ces processus chimiques ou diastasiques nécessaires à la mise en liberté du calcium, se produiraient avec une intensité particulière dans les cellules nerveuses, où les ions métalliques, dont l'échange est, d'après Loeb, la condition nécessaire de l'excitation, seraient en nombre suffisant. C'est ce qui explique que les bords si richement innervés de l'ombrelle des méduses battent au moins quelque temps dans toutes les solutions.

(1) Loeb, loc. cit., p. 160.

(2) Loc. cit., page 160.

Mais est-ce le remplacement de NaCl ou KCl par CaCl_2 , ou le phénomène inverse qui cause la contraction ? Lœb ne considère pas la question comme tranchée, cependant des expériences variées semblent bien montrer que c'est la substitution de Na ou de K à Ca (ou Mg ?), qui cause la contraction.

Excitabilité de contact. — Lœb décrit, le premier, cette forme d'excitabilité en 1901 (1). Elle est provoquée par les sels qui précipitent le calcium ou diminuent la concentration de ses ions (2), à savoir les citrates, les oxalates, les fluorures, carbonates, phosphates, etc.

« Quand on met un muscle de grenouille dans une solution $\frac{\text{N}}{8}$ de citrate de soude, et qu'il y reste deux ou 3 minutes, il donne des *contractions tétaniques* ou convulsives *dès qu'on l'en retire*. Ces contractions peuvent durer une minute ; elles s'arrêtent dès qu'on replonge le muscle dans la solution. On peut répéter ce phénomène plusieurs fois de suite. »

Ces contractions ne sauraient être comparées aux contractions rythmiques dont il a été parlé précédemment et que l'on obtient en plongeant le muscle dans une solution de citrate de soude, par exemple. Bien au contraire, Lœb a observé que lorsqu'il se produisait des contractions *rythmiques pendant* la période d'immersion du muscle dans une solution de citrate, ce même muscle ne donnait plus, lorsqu'on le retirait *hors de la solution*, les contractions violentes et convulsives signalées par Lœb. Zæthout a trouvé que cette dernière réaction se produisait plus vite et plus sûrement si on ajoutait à la solution une petite quantité d'un sel de K . Le K agirait peut-être en inhibant la tendance qu'a le muscle à se contracter *rythmiquement dans la solution même* (Lœb).

La réaction musculaire qui se manifeste sur le muscle préalablement plongé dans une solution de citrate de soude puis exposé à l'air, reçut de Lœb le nom de *réaction de con-*

(1) J. Lœb. Amer. Journ. of physiol. T. V, p. 362 1901 et Dynamique, etc., p. 151.

(2) Nous voyons qu'ici, Lœb considère les sels décalcifiants comme *abaisseurs* de la concentration des ions de Ca (voir notre note, page 141).

tact « parce que, dit-il, cette réaction résulte d'un changement du milieu dans lequel se trouve le muscle » (1).

Contrairement aux contractions rythmiques étudiées dans le paragraphe précédent, « la réaction de contact » est un phénomène purement *local*. En effet, si après avoir plongé un gastrocnémien de grenouille dans une solution appropriée, on n'expose qu'une partie de ce muscle à l'air, l'autre partie restant plongée dans la solution, on remarque que seuls les faisceaux de fibres mis en contact avec l'air entrent en contraction tonique. Les fibres qui restent dans la solution demeurent en repos.

Ce n'est pas la composition de l'air atmosphérique qui est cause de la « réaction de contact », car cette dernière se produit quand le muscle, préalablement immergé, est mis en contact avec Co^2 , l'huile, le toluène, une solution de sucre ou de glycérine. Tous ces corps sont des non électrolytes et Lœb (2) « croyait d'abord n'avoir affaire ici qu'à la *secousse d'ouverture* d'un courant galvanique. Mais toute une série de faits semblent contredire cette idée. D'abord, on n'obtient pas de *secousse de fermeture* — c'est-à-dire que le muscle ne se contracte pas quand il passe de l'air dans la solution de citrate. Ensuite la période de latence, c'est-à-dire le temps qui s'écoule entre le moment où l'on sort le muscle de la solution de citrate et la contraction, est relativement grand, car il peut être d'une seconde ou plus.

« Quand le muscle a atteint son plus haut degré d'excitabilité dans la solution de citrate, il y a aussi téтанos si on le retire d'une solution de sucre ou de glycérine pour le laisser à l'air, tandis que la contraction cesse dès qu'on le remet dans la solution de sucre. Mais dans cette dernière solution, l'excitabilité diminue tellement vite qu'il faut ensuite replonger le muscle dans la solution de citrate de soude pour faire réapparaître le phénomène. » (3).

D'ailleurs que le muscle ait été plongé dans une solution de citrate de sodium ou de K, son excitabilité de contact disparaît très vite non seulement dans le sucre, mais encore dans NaCl ou LiCl .

(1) Lœb, loc. cit., p. 151.

(2) Lœb, loc. cit.

(3) J. Lœb, loc. cit., p. 152.

« Les solutions (1) qui précipitent le calcium ou abaissent la concentration de ses ions, sont les seules à produire l'excitabilité de contact. Quelle que soit l'action de ces sels, le fait que cette forme d'excitabilité apparaît déjà au bout d'une minute ou même moins, prouve qu'il n'y a que la couche superficielle du muscle ou des cellules qui soit modifiée. Il est impossible que les anions de ces sels pénétrent plus profondément dans les cellules dans un temps aussi court. Il se produit donc dans la couche superficielle des cellules du muscle, une diminution de la concentration des ions Ca . Dès que cette couche superficielle anormale est réalisée, le muscle se contracte pour chaque passage de citrate, carbonate ou fluorure à l'air, l'acide carbonique, l'huile, etc. Mais s'il reste dans l'un de ces derniers milieux ou dans le NaCl pur, il perd son *excitabilité de contact*, ce qui est dû, à mon avis, à ce que les sels de calcium ou les ions de Ca vont de l'intérieur de la fibre musculaire à la surface, de sorte que la surface se rapproche de sa composition primitive. Remettons ensuite pendant un temps très court le muscle dans le citrate ou le carbonate de soude, il y a de nouveau diminution des ions de calcium à la surface, et l'excitabilité de contact réapparaît.

« Zœthout a trouvé que dans une solution pure d'un sel de calcium, le muscle se relâche, tandis qu'il a tendance à se raccourcir dans une solution d'un sel de K. Il admet, en conséquence, que la réaction de contact est due à ce que les ions de K entrent en combinaison dans le muscle à la place des ions Ca . Cela est possible, mais n'explique pas pourquoi cette réaction ne se produit que lorsque le muscle est retiré de la solution de citrate et non pendant qu'il est dedans.

« Je crois cependant, que l'idée d'après laquelle la contraction musculaire serait due à une substitution d'ions K aux ions Ca , mérite d'être considérée sérieusement. » (Loeb, l. cit., p. 153).

Importance de la réaction de la solution saline excitatrice.
— L'addition d'une petite quantité de NaOH accélère le phénomène peut-être en accélérant la diffusion du sel dans le muscle.

(1) Loc. cit. p. 153.

L'addition d'une petite quantité d' HCl à une solution de NaCl $\frac{\text{N}}{8}$ raccourcit considérablement la période de latence des contractions rythmiques. Lœb croit que l'acide agit ici comme les sels qui précipitent les sels de chaux en ce qu'il libère le calcium de certaines combinaisons où il se trouve dans le muscle ou les nerfs. « Ce fait est très important parce que pendant l'activité du muscle, et sans doute aussi des nerfs, il se forme de l'acide carbonique et peut-être d'autres acides.

« Le phénomène de contraction serait donc produit par un échange d'ions Na ou K contre des ions Ca (ou Mg) — ou inversement — échange qui modifierait une des propriétés physiques de la combinaison iono-protéique (tension superficielle, viscosité, perméabilité, etc.), et déterminerait ou faciliterait aussi le raccourcissement musculaire. » (1).

Recherches d'Overton (2). — Influence du Sodium sur l'excitabilité musculaire. — I. Quand des muscles sont immergés dans des solutions de sucre de canne ou d'autres solutions de *non électrolytes* isotoniques au sang, et vis-à-vis desquelles les muscles sont peu, ou du moins lentement perméables, ces muscles perdent, après quelque temps, leur *contractilité* et leur *conductivité*.

II. Cette inexcitabilité des muscles est le résultat de l'exosmose du NaCl qui abandonne le liquide interstitiel du muscle, c'est-à-dire le liquide qui entoure les fibres musculaires considérées isolément.

III. L'excitabilité des muscles qui étaient devenus inexcitables à la suite de leur séjour dans les solutions de sucre de canne, etc., renaît petit à petit si on ajoute aux solutions en expérience une petite quantité de NaCl .

IV. L'état d'inexcitabilité musculaire n'est pas dû à ce que le départ de NaCl augmente la résistance électrique du muscle, car les muscles soumis à l'expérience sont aussi

(1) I. Lœb, loc. cit., p. 147.

(2) D'après ses conclusions formulées en 1902 dans les archives de Pflüger 92, 346.

insensibles aux excitations mécaniques qu'aux excitations électriques.

D'ailleurs, l'appauvrissement du liquide interstitiel en NaCl ne diminue que *lentement* l'excitabilité musculaire, tant que la proportion de NaCl n'est pas descendue au-dessous de 0,12 pour cent. Mais dès que la diminution du NaCl dépasse cette proportion, l'excitabilité diminue alors elle-même très rapidement pour disparaître bientôt tout à fait.

V. Dans des solutions de sucre de canne à 6 p. 100 contenant environ 0,1 à 0,12 p. 100 de NaCl , les muscles restent à peu près aussi longtemps excitables que dans une solution de NaCl de 0,6 à 0,7 p. 100, mais ne contenant pas de sucre de canne.

VI. La plus *faible* proportion de NaCl que doit contenir une solution pour que cette dernière laisse au muscle immergé une excitabilité nettement contrôlable, cette proportion minima est de 0,07 p. 100 à une température allant de $+16$ à 22°C .

VII. Le NaCl peut être remplacé par tous les sels de Na non toxiques. La concentration minima que doivent avoir tous ces sels pour conserver au muscle immergé son excitabilité est à peu près équivalente à celle d'une solution de NaCl à 0,7 p. 100.

Il est donc à peu près certain que le maintien de l'excitabilité musculaire repose uniquement sur la présence d'ions de Na , tandis que les anions (et les molécules électriques neutres), se comportent passivement.

VIII. Les sels de Na peuvent être remplacés par des sels de *Lithium*, mais pas par des sels de Potassium, de Rubidium, de Césium, ni d'Ammonium, pas plus que par des sels de Magnésium, de Calcium (1), de Strontium, ni de Baryum.

La concentration minima des sels de Lithium nécessaire à la conservation de la contractilité, est la même que celle

(1) Ceci ne doit pas surprendre le lecteur s'il se souvient des recherches de Lœb relatives plus haut sur les proportions respectives de $\frac{\text{Na}}{\text{Ca}}$ nécessaires aux contractions musculaires.

notée pour le sel de Na correspondant, si on calcule d'après la concentration moléculaire ; si on calcule d'après la concentration en poids, cette concentration est un peu plus faible que pour le sel de sodium correspondant.

Influence du sodium sur la conductivité. — Dans des expériences ultérieures à celles dont nous avons parlé plus haut, Overton constata que le départ du sodium hors de la fibre musculaire ne lui enlevait pas seulement la propriété de se contracter, mais encore celle de conduire l'excitation.

Overton suppose que pendant l'activité musculaire, il se produit un échange entre les ions K contenus dans les fibres musculaires et les ions de Na contenus dans la solution qui baigne ces dernières, en même temps que pendant une très courte durée, la membrane de séparation ou la substance même des fibres musculaires, devient perméable. Overton reconnaît d'ailleurs que nous pouvons difficilement nous figurer exactement ce qui se passe à ce moment-là, et comment les ions de Na peuvent sortir des fibres musculaires après y avoir pénétré ; car, dit cet auteur, ces fibres sont, autant que l'on sache, aussi riches en K et pauvres en Na dans leur vieillesse que dans leur jeunesse.

Hamburger essaye d'expliquer, de la façon suivante, la nécessité d'ajouter du $NaCl$ à une solution de sucre de canne, pour qu'un muscle qui y baigne conserve sa contractilité. S'il est vrai, comme cela paraît avoir été démontré expérimentalement, que le périmysium externe et interne, ainsi que le sarcolemme, soient perméables aux sels, il faut, après qu'un muscle a séjourné quelque temps dans une solution de sucre de canne à 6 pour 100, que le liquide interstitiel soit presque transformé en une solution de sucre de canne à 6 p. 100 *exempte de sels*. Or, dans ces conditions, il ne peut être question d'un échange d'ions entre la substance musculaire et le liquide qui l'entoure, puisque dans ce dernier, il n'existe plus d'ions. « Il ne me paraît pas impossible, dit Hamburger, qu'alors la substance musculaire laisse sortir du $NaCl$ libre ; tandis que dans les conditions normales, cette sortie de $NaCl$ n'existe pas parce qu'il existe du $NaCl$ dans le liquide qui baigne la substance musculaire et qui se trouve entre cette dernière et le périmysium...

« On obtient le même effet si on ajoute à la solution sucrée NaCl ou LiCl et en quantité telle que la concentration de ces sels soit en équilibre avec la concentration en Na des protéïdes-ions (« Ionen proteide ») de la substance musculaire. »

Mais pourquoi, demande Boruttan(1) les sels de Na ne peuvent-ils être remplacés que par des sels de Lithium à l'exclusion de tous les autres sels ? Ce qui vient d'être dit ne l'explique pas le moins du monde..... « Il s'agit toujours d'actions *spécifiques incompréhensibles* ; ces actions sont inexplicables parce que nous ignorons complètement le rôle que joue le NaCl dans la structure et le fonctionnement des fibres musculaires. »

Voici, d'ailleurs, des expériences décrites dans le même travail d'Overton que nous analysons plus haut et qui paraissent jeter quelque clarté sur l'action spécifique des sels minéraux dans le fonctionnement du muscle.

Action antagoniste de quelques sels minéraux sur l'activité musculaire (d'après Overton). — A. C'est l'action antagoniste entre les *sels de Na* et ceux de K qui frappa tout d'abord Overton.

Soit une solution contenant assez de NaCl pour conserver l'intégrité des fonctions musculaires, et ne contenant ni sel de calcium ni sel de strontium. Il suffit d'y ajouter une solution de KCl contenant de 0,065 à 0,7 p. cent de ce sel pour que les sartorius, et d'ailleurs les autres muscles de grenouille immergés dans ce mélange subissent une paralysie complète.

Pour obtenir cette même paralysie complète des muscles courts des orteils de la grenouille, il faut que la solution de KCl soit un peu plus concentrée et qu'elle atteigne de 0,12 à 0,13 p. cent.

B. Lorsque la concentration de la solution de KCl employée dans l'expérience est plus faible ou seulement un peu supérieure à la *concentration limite*, la paralysie provoquée par le KCl reste pendant longtemps presque complètement réversible, surtout dans le froid.

(1) Boruttan, loc. cit., p. 443.

Si on transporte le muscle paralysé dans une solution de NaCl pure, ou mieux dans une solution de Ringer, l'excitabilité originelle est presque entièrement récupérée. Cela est vrai, surtout pour les grenouilles d'automne.

C. Quand on diminue la quantité de NaCl contenue dans le mélange salin, la quantité minima de KCl nécessaire pour amener la paralysie complète diminue de même considérablement.

D. Si, ayant préparé une solution de $\text{NaCl} + \text{KCl}$ capable d'amener une paralysie complète, on y plonge une partie seulement du muscle en expérience, on constate que la conductivité disparaît complètement dans cette portion de muscle qui a été immergée.

Si cette même portion est lavée dans une solution de NaCl pure, la conductivité se rétablit.

Lorsqu'au lieu d'employer une solution de KCl de concentration suffisante pour produire une paralysie complète, on fait usage d'une concentration inférieure, la conductivité du muscle est déjà fortement compromise.

E. Contrairement à ce qui se produit quand on immerge les muscles dans une solution de K haloïde ou de nitrate de K , les muscles peuvent rester très longtemps vivants dans des solutions de phosphate de K (K^2HPO_4), de tartrate de K , de méthylsulfate de K et de quelques autres sels de K , alors que ces solutions sont isotoniques à une solution de NaCl de concentration, allant de 0,6 à 0,8 p. cent. Mais tant que les muscles expérimentés séjournent dans ces différentes solutions, ils sont inexcitables.

Des muscles *sartorius*, par exemple, qui ont d'abord été plongés dans une solution de sucre de canne à 6 p. 100 jusqu'à ce que la plus grande partie de leur NaCl soit sortie (par exosmose (1) de leur tissu interstitiel, ces muscles peuvent, dans le froid, rester plus de 50 heures dans une solution de K^2HPO_4 à 1,3 p. 100, sans souffrir un dommage durable et notable ; c'est-à-dire qu'après avoir été transportés dans une solution de Ringer, ils redeviennent presque aussi

(1) Ce sont les conceptions d'Overton que nous exposons.

excitables et se contractent presque aussi bien qu'avant l'expérience.

Par contre, il suffit de l'addition d'une très petite quantité de ces mêmes sels de K (K^2HPO_4 , etc.), à une solution de $NaCl$, pour que les muscles soient complètement inexcitables, tant qu'ils séjournent dans ce mélange.

La concentration minima de ces sels de K nécessaire à la production d'une paralysie complète est un peu inférieure à celle qui répond à une solution de KCl à 0,6 p. cent.

Notons enfin que les muscles plongés dans des solutions isotoniques de ces différents sels de K n'augmentent pas de poids.

En somme, dit Overton, il faut distinguer deux sortes d'actions des sels de K sur les muscles :

1° Les actions paralysantes exercées par tous les sels de K et qui sont dues probablement aux ions de K.

2° Les actions nocives *durables* qui ne doivent être attribuées qu'à *certains sels de K* et qui doivent, sans doute, être dues aux *molécules électriques neutres*.

F. Lorsqu'il s'agit d'une action purement paralysante, il ne semble pas qu'il y ait vraiment pénétration de sels de K dans les fibres musculaires ; mais la présence de sels de K dans le liquide interstitiel des fibres musculaires, dès que les ions de K atteignent une certaine concentration, s'opposerait à l'accomplissement d'un processus qui, sans la présence de ces ions dans le liquide interstitiel, se produirait à la surface des fibres musculaires, quand on les excite. Ce processus serait précisément l'échange d'ions de Na et de K dont il a été parlé plus haut (voyez page 152). Cet échange aurait lieu pendant une certaine phase de l'excitation musculaire, phase pendant laquelle la fibre musculaire deviendrait temporairement perméable aux ions de K de dedans en dehors, et aux ions de Na de dehors en dedans.

G. Le chlorure de rubidium agit exactement comme KCl , mais plus lentement.

Les chlorures de césium et d'ammonium agissent d'une façon très analogue. Toutefois, l'action toxique de ces deux derniers sels se fait sentir beaucoup plus tard ; et l'absorp-

tion d'eau que l'on constate, après leur mort, sur les muscles plongés dans ces solutions, est moindre que celle qui se produit dans les solutions de KCl et de $Rb.Cl$.

H. Quand des muscles qui ont perdu leur excitabilité par suite de leur séjour dans une solution de sucre de canne pure, sont transportés dans une solution de sucre de canne + $CeCl$, ou de sucre de canne + NH^4Cl , ils récupèrent, après quelques minutes d'immersion, une *très faible* excitabilité.

L'inexcitabilité consécutive au séjour des muscles dans des solutions de sucre de canne pure, n'est d'ailleurs pas due à la mort de ces muscles ; car transportés dans une solution de $NaCl$ pure ou de Ringer, ils redeviennent parfaitement excitables.

Par suite de l'absence de $NaCl$ dans le tissu interstitiel, les muscles de grenouille immergés dans les solutions de sels de rubidium ou de césium présentent des contractions (unrythmische) non rythmiques.

I. Immergés dans une solution de $CaCl^2$ isotonique à une solution de $NaCl$ de 6 à 7 p. 1000, les muscles meurent rapidement et se raccourcissent en diminuant de poids.

Si au lieu de transporter les muscles dans une solution pure de $CaCl^2$ on les transporte dans une solution de $NaCl$ + $CaCl^2$ isotonique à une solution de $NaCl$ à 7 p. 1000, on constate que ces muscles ne subissent pas de lésions durables si on ne les laisse qu'un court espace de temps ; il ne se produit également qu'une très petite diminution de poids due, sans doute, à ce que le tissu cellulaire des muscles a subi une légère modification dans ses propriétés d'imbibition, modifications résultant de l'immersion du muscle dans ladite solution.

K. Quand une solution saline ne contient pas de $NaCl$, l'action du $CaCl^2$ exerce sur le muscle une action nocive à une concentration bien plus faible que lorsqu'il existe du $NaCl$ dans la solution.

L. La diminution de poids subie par les muscles qui ont été transportés d'une solution de $NaCl$ de 6 à 7 p. 1000 dans une solution isotonique de $CaCl^2$, provient probablement de ce que, par suite de l'irruption de $CaCl^2$ dans les fibres mus-

culaires mortes ou mourantes, il se fait là un précipité de phosphate de chaux.

Il n'est pas impossible non plus que sous l'action des sels de calcium, les protéides des fibres musculaires mortes soient devenues moins faciles à imbiber que quand elles sont mises uniquement en présence de sels alcalins.

M. Quand les muscles qui ont perdu leur excitabilité sont transportés dans une solution de sucre de canne + CaCl^2 , ils récupèrent une très faible excitabilité, à la condition que CaCl^2 soit donné en quantité convenable. Toutefois, les contractions obtenues restent faibles et localisées.

Certains muscles (sartorius, gastrocnémiens), récupèrent également un certain degré d'excitabilité quand, après avoir été paralysés, ils sont transportés dans une solution de sucre de canne + MgCl^2 . Le MgCl^2 agit d'une façon moins toxique que CaCl^2 , à égale concentration moléculaire.

N. Il suffit d'ajouter une très petite quantité de CaCl^2 à certaines solutions toxiques pour que les muscles immergés dans ces solutions acquièrent une résistance considérable vis-à-vis de ces solutions.

Il en est ainsi lorsqu'on ajoute des traces de sels de calcium à des solutions hypertoniques, ou à des solutions paralysantes de sels de K, Rb, Cs, AzH^4 , ou enfin à une solution toxique de BaCl^2 .

Le chlorure de strontium agit d'une façon analogue à CaCl^2 . Par contre, ni BaCl^2 ni MgCl^2 n'agissent comme CaCl^2 , bien que MgCl^2 soit moins toxique pour le muscle que CaCl^2 .

Il résulte de ce qui vient d'être dit qu'il ne saurait être question ici d'une action antagoniste générale entre les sels à cations bivalents et ceux à cations monovalents, comme le prétend Lœb (1). Boruttan fait d'ailleurs observer que les données actuelles que nous possédons sur le rôle des ions et de leur migration dans les contractions musculaires ne nous permettent encore de tirer aucune conclusion définitive sur ce sujet (2).

Höber fait cependant les réflexions suivantes (3) :

(1) Voir plus loin page 170.

(2) Lillie. Amer. journal of physiology T. V, p. 56. 1901, avait fait observer que les mouvements des cils vibratils étaient influencés par les solutions salines.

(3) Höber. Physik. Chemie, p. 408.

Si on compare l'influence des différents chlorures sur l'excitabilité des muscles qui avaient perdu leur excitabilité par suite de leur immersion dans une solution sucrée, on remarque que c'est le NaCl qui exerce l'action la plus favorable sur les muscles momentanément paralysés. Le LiCl agit déjà moins favorablement et enfin les solutions de Cs , AzH^+ , Ba , Sr , et Mg ne rendent à ces muscles qu'une excitabilité limitée et éphémère. Si on opère sur des muscles frais de grenouille, et qu'on les immerge directement dans des solutions de chlorures alcalins, on constate que c'est dans une solution de NaCl que l'excitabilité se conserve le plus longtemps ; puis viennent LiCl , CsCl , AzH^+Cl et enfin RbCl ; ce qui concorde avec les faits observés sur les muscles préalablement immergés dans une solution sucrée.

C'est dans une solution de KCl que les muscles frais de grenouille perdent le plus rapidement leur excitabilité. En somme, nous obtenons la série suivante de cations en commençant par ceux dont l'action est la plus favorable :

Na , Li , Cs , AzH^+ , Rb , K .

Or, cet ordre de succession concorde à la fois avec celui que fournit le classement des cations d'après leur action hémolytique (1) et avec celui fourni par l'étude de leur pouvoir précipitant sur les colloïdes hydrophiles (page 126). Höber en conclut qu'il doit y avoir quelque rapport entre l'excitabilité musculaire et la consistance des colloïdes dans la membrane cellulaire.

C. Schwarz a étudié l'action des anions sur l'excitabilité musculaire des muscles préalablement immergés dans une solution sucrée puis transportés dans des solutions de sels de sodium.

L'expérience montre que les anions se rangent dans l'ordre suivant en commençant par ceux qui agissent le plus favorablement :

SCN , I , NO_3^- , Br , Cl , CH_3COO , SO_4^- , tartrate, citrate. C'est exactement l'ordre de succession de la série d'Hofmeister (2). Ici encore, il est impossible de ne pas être frappé du paral-

(1) Miculicich, Centralbl. fur Physiol. 24 253 1910.

(2) Voir page 126.

lélisme qui existe entre l'action des anions sur le fonctionnement musculaire et leur action sur les colloïdes.

Höber commente également les expériences d'Overton sur les sels de potassium. On sait qu'Overton classe les sels de K en deux groupes : au premier groupe appartiennent le sulfate, le tartrate, le phosphate, l'éthylsulfate et l'acétate de potassium ; au second groupe appartiennent le chlorure, le bromure, le nitrate et l'iodeure de potassium. Or, quand un muscle est immergé dans une solution isotonique d'un sel de potassium appartenant au premier groupe (l'immersion durât-elle de 24 à 50 heures), et que ce muscle est ensuite placé dans une solution de NaCl, l'excitabilité réapparaît rapidement ; et cette réapparition a lieu avec une égale rapidité, quel que soit le temps pendant lequel le muscle a été immergé dans le sel de potassium. Ceci ne peut s'expliquer, d'après Höber, que si on admet que la membrane plasmique des muscles est imperméable aux sels du premier groupe. Si cela n'était pas, il faudrait, comme le fait observer Overton, que les muscles qui séjournent de 24 à 50 heures dans une solution, se gonflassent et augmentassent petit à petit de poids, ce qu'ils ne font pas. Et, de plus, il faudrait, si les sels de K avaient pénétré à l'intérieur du muscle, qu'il s'écoulât un long temps avant que le muscle recouvrit son excitabilité, afin que la totalité du sel de K entré dans le muscle eût le temps d'en sortir, car on sait qu'une très petite quantité de K suffisent à amener une paralysie musculaire. Enfin, ce temps de latence devrait être proportionnel au temps pendant lequel le muscle aurait été immergé dans la solution du sel de K, c'est-à-dire à la quantité de K qu'il aurait absorbé et qui devrait avoir le temps de s'éliminer. Nous savons qu'il n'en n'est pas ainsi ; les expériences d'Overton montrent donc que la surface des fibres musculaires n'est pas perméable aux sels de potassium du premier groupe. C'est, d'ailleurs, aux mêmes conclusions que sont arrivés Urano (1) et Fahr (2) qui constatèrent que les sels de K ne sortent pas librement de dedans en dehors. Or, si les sels de K paralysent le muscle sans pénétrer dans sa subs-

(1) Urano. zeitsch. f. Biol. 50 212, 1908. 51. 483, 1908.

(2) Fahr. Zeitschr. f. Biol. 52, 72. 1909.

tance, Höber pense qu'il ne resterait qu'à admettre, avec Overton, que ces sels agissent en modifiant la membrane plasmique. D'après Höber, cette modification consisterait en un changement d'état des colloïdes de la membrane. Si on admet l'existence d'une membrane, et que cette dernière n'est pas un élément inerte, mais qu'elle réagit comme un organe qui prend part aux différents processus physiologiques de la cellule, on comprendra que les modifications de la membrane aient pour conséquence des altérations fonctionnelles.

En ce qui concerne le second groupe de sels de K examinés par Overton, nous constatons que le chlorure, le bromure, le nitrate et l'iodure de K paralysent également les muscles immergés dans leurs solutions ; mais ici les muscles se gonflent dans les solutions salines ; et lorsqu'après leur paralysie, on les transporte dans une solution de NaCl , ils ne récupèrent pas leur contractilité. Cependant, si dès le début de l'expérience, la solution de sel de K est très diluée avec une solution de NaCl , les actions des sels du second groupe ne se différencient pas sensiblement de celles que nous avons observées avec les solutions salines du premier groupe, de sorte qu'ici encore, Höber croit pouvoir attribuer l'action paralysante primitive à une action sur les colloïdes de la membrane plasmique.

Influences des sels alcalins sur les courants musculaires. — Biedermann(1) a découvert depuis longtemps qu'à un point quelconque de la surface d'un muscle de grenouille non lésé et ne présentant aucun courant, est mis en contact avec un sel de potassium, il naît un courant de repos de même direction et de même force électromotrice que celui qui se produirait à la suite d'une lésion musculaire. Höber(2) a étudié l'action d'autres sels que le K sur les courants de repos et est arrivé aux intéressantes conclusions que voici :

Tous les sels qui produisent un courant de repos normal, qui, par conséquent, rendent négatif le point du muscle en

(1) Biedermann. Sitzungsber. d. k. k. Akadem. der Wissenschaft. 81. III, 76. Vienne 1880.

(2) Höber Pfl. Arch. 106, 599 (1905).

contact avec la solution, suspendent rapidement l'excitabilité, tandis que tous les sels qui maintiennent le muscle non lésé à l'état indifférent ou bien qui font naître un courant de repos en sens inverse, peuvent rendre, pour longtemps, l'excitabilité aux muscles qui l'ont perdue par suite de leur immersion dans une solution sucrée.

Enfin Höber attire l'attention sur ce fait, c'est que lorsque le contact de la solution saline n'a pas été trop prolongé, leur action *est complètement reversible*. Nous allons voir l'importance de ce fait par ce qui va suivre.

« Si on se demande, en effet, quelle est la cause profonde sur laquelle repose le parallélisme entre le courant de repos et l'excitabilité musculaire, il faut, avant tout, se rappeler l'analogie qui existe entre le courant de repos et le courant d'action qui caractérise l'excitation..... On sait que l'excitabilité se différencie parfaitement de la contractilité ; il est facile de séparer ces deux propriétés en constatant que le nerf, l'organe typique d'excitation, ne possède que la propriété d'excitabilité, son excitation étant signalée par la naissance d'un courant d'action. D'ailleurs, sur le muscle lui-même, on peut séparer l'excitabilité de la contractilité : qu'il suffise de rappeler que le courant d'action du muscle naît pendant le temps de latence. Nous savons aussi que, d'après les recherches de v. Brücke (1), la contractilité musculaire peut avoir grandement souffert par suite de la fatigue de l'organe, alors que les courants d'action passent encore sans avoir subi de modifications. Mais les courants de repos normaux, engendrés par l'action des solutions salines rappellent les courants d'action plus encore que les courants de lésion habituels, et cela, parce que les premiers sont reversibles : il suffit d'enlever le sel qui a été en contact avec le muscle, par un simple lavage, pour ramener le muscle à son état primitif. Les courants de démarcation sont donc, en quelque sorte, fixes, perpétuels, alors que les courants de repos salins sont (à la condition de ne pas laisser les sels trop longtemps en contact avec le muscle), des courants d'action un peu trainés en longueur.

(1) E. Th. v. Brücke. Pflüg. Arch. 124, 215 (1908).

« Certains sels, comme, par exemple, les sels de K, produisent comme une excitation, une négativité locale et éphémère du muscle, en même temps qu'ils amènent le muscle à un état d'inexcitabilité, c'est-à-dire à un état dans lequel étant déjà excités, ils ne peuvent pas l'être davantage. Il se passe là quelque chose d'absolument comparable à une lésion locale du muscle. Cette lésion le rend négatif comme un muscle excité, en même temps qu'elle le rend inexcitable.

« Il nous est donc permis de supposer que dans l'excitation naturelle, un phénomène analogue à celui que nous avons provoqué artificiellement avec des solutions salines est déclenché également, d'une façon quelconque, par une action saline. Mais comment agissent les sels ? »

« Il résulte des recherches d'Overton que les sels modifient l'excitabilité musculaire par l'action qu'ils exercent sur la membrane plasmique des fibrilles musculaires. Mes propres recherches (1) sur le courant de repos m'ont amené à penser que l'action exercée sur la membrane plasmique réside probablement dans un changement dans la consistance des colloïdes de la membrane. D'autre part, d'après la théorie moderne des courants bioélectriques, il est plus que probable que les sels qui engendrent un courant de repos normal, *augmentent la perméabilité de la membrane*. Il est donc à présumer que les sels de K et ceux qui lui sont voisins rendent le muscle inexcitable en relâchant leur *membrane plasmique colloïdale* ; et alors, on pourrait également admettre que le processus d'excitation musculaire comportait un changement dans la consistance de ses colloïdes, lequel changement serait provoqué par une action électrolytique à l'intérieur du muscle. » (Höber, loc. cit.).

Influence des sels sur le tissu nerveux et sur la sensibilité et l'excitabilité des organes. — Ce n'est pas seulement sur les contractions rythmiques que les sels minéraux exercent leur action. De nombreux expérimentateurs, parmi lesquels nous citerons Limbourg, Hirschmann, Grützner, Overton, Lingle, Loeb, Mathews, ont montré que le fonction-

(1) De Höber.

nement des *nerfs* était également sous la dépendance des sels minéraux ; et là, comme dans les expériences faites sur la survie des animaux marins et sur les contractions rythmiques, chaque sel minéral s'est révélé comme ayant une *action spécifique*.

Dès 1887, Limbourg (1) expérimenta l'action des solutions salines et de diverses solutions d'urée sur l'excitabilité des nerfs moteurs de la grenouille. Il conclut de ses recherches que les phénomènes d'excitation nerveuse, mis en évidence par des agents chimiques, ne pouvaient s'expliquer uniquement par une soustraction d'eau au tissu nerveux.

On constate, en effet, comme Hermann l'avait déjà fait observer, que des solutions de sels ou d'urée, à certaines concentrations, ont un effet excitant plus marqué que des solutions *plus concentrées* (2).

D'autre part, si on compare l'action de solutions équivalentes de KCl et de $NaCl$, on constate que le $NaCl$ excite davantage que le KCl , bien que le premier de ces sels diffuse *plus lentement* que le dernier. Il faut donc, de toute évidence, admettre qu'à côté de l'action purement physique des sels, qui est la même pour tous, il existe une action particulière à chacun d'eux.

Quatre ans après Limbourg, Hirschmann (3) arriva, par une autre voie, à des conclusions absolument semblables. S'appuyant sur les travaux de Heidenhain, Nasse et de Vries, il fit porter ses recherches sur des muscles de grenouille pourvus de leur nerf, et dont ce dernier était en contact avec la solution saline expérimentée sur une étendue aussi petite que possible. Il rechercha alors, pour chaque sel, quelle était la concentration minima capable de déclancher une contraction musculaire. Il notait, dans ces expériences, *le temps de latence* et la *durée* des contractions.

(1) Limbourg. Pfl. Arch. T. XLI, p. 303. 1887.

(2) Ce fait, en apparence paradoxal, nous étonnera moins quand nous aurons relaté nos expériences sur les encéphales d'oiseaux ; nous avons, en effet, constaté d'une façon constante, que l'augmentation de poids d'un cerveau était inversement proportionnelle à la concentration d'une solution saline ; et, qu'au-delà d'une certaine concentration, les cerveaux imbibés dans des solutions d'un même sel, subissaient un phénomène inverse, c'est-à-dire qu'ils diminuaient de poids au moins au début de leur séjour dans ces solutions à fortes concentrations.

H. W.

(3) Hirschmann. Pfl. Arch. T. XLIX, p. 301. 1891.

Voici les résultats de ses recherches :

Une solution de NaCl à 2,34 pour 100 provoque des contractions avec un temps de latence à peu près égal à celui observé avec une solution de NaI , à une concentration de 6,64 pour 100 (c'est-à-dire à peu près équimoléculaire à une solution de NaCl à 2,34 pour 100).

Les sels de K n'exercent aucune action excitante.

Hirschmann qui, à cette époque, semblait peu familiarisé avec les phénomènes de dissociation électrolytique, considéra à tort (dit Boruttau), les solutions des divers sels de sodium comme isotoniques ; mais malgré cette erreur, la divergence des résultats obtenus avec les sels de lithium et surtout des sels de K, le conduisirent à admettre que le métal des solutions salines *exerçait une action chimique spécifique* sur la substance nerveuse (1).

En 1892, Grützner (2), bien qu'ayant eu des résultats un peu différents de ceux d'Hirschmann, constata que des solutions équimoléculaires de Na , Fl , NaI , NaBr et NaCl exerçait chacune une action différente. Les anions ont donc également leur importance dans l'action des solutions salines. Les recherches de Grützner lui montrèrent d'ailleurs que des solutions équimoléculaires de sels ayant le même acide lié à des bases différentes, exerçaient des actions également différentes. Ainsi KCl agit comme étant le sel le plus toxique et le plus rapide dans son action. Rub.Cl est moins toxique, Ce.Cl moins encore que Rub.Cl .

Overton, dans le travail déjà maintes fois cité (3), déclara que les troncs nerveux ne perdent pas leur excitabilité par leur séjour dans une solution de sucre pure ; mais il ajoute « qu'il n'est pas impossible qu'un liquide contenant du NaCl reste emmagasiné entre le cylindre axe et la myéline. Si, toutefois, il existe réellement autour du cylindre axe un espace periaxial destiné à la conduction de la lymphe ».

Dans son mémoire publié dans les archives de Pflüger en 1904 (4), nous voyons qu'Overton considère comme indispen-

(1) C'est exactement à cette conclusion que nous conduisirent nos propres expériences contrôlées par des coupes microscopiques. (H. W.).

(2) Grützner. Pfl. Arch. T. LIII, p. 83. 1892.

(3) Overton. Pflüger's arch. T. XCXII, p. 346 1902,

(4) Overton. Pfl. Arch. T. CV, p. 280 1904.

sable la présence d'un sel de chaux dans la lymphe du tissu nerveux, non pas pour l'activité du nerf proprement dit, mais pour l'accomplissement des phénomènes liés à l'arc réflexe.

Dans ce même mémoire, l'auteur insiste également sur l'action des ions métalliques sur les terminaisons nerveuses. Voici des conclusions que nous trouvons rapportées textuellement dans le mémoire de Boruttan (loc. cit.).

Les sels de K, Rub, Ce et AzH^+ , détruisent la conductibilité des fibres nerveuses motrices, quand on les emploie à des concentrations à peu près égales à celles que ces sels devaient avoir, pour amener une paralysie complète des fibres musculaires. Par suite de la structure du tissu nerveux, l'équilibre entre la solution qui le baigne et la lymphe tissulaire s'établit beaucoup plus lentement que dans les muscles, ce qui pourrait faire croire que, vis-à-vis des dites solutions, les nerfs offrent une résistance beaucoup plus grande que les muscles.

Les sels de Ca et de Str. exercent sur les nerfs une action antagoniste à celle qu'exercent les sels de K.

On sait que Locke (1) avait constaté que l'excitabilité indirecte des préparations neuro-musculaires était diminuée par leur séjour dans des solutions de NaCl pures. Overton a trouvé cette inhibition extraordinairement accélérée quand on ajoutait à la solution de NaCl de légères traces d'un sel de K. Ce phénomène est d'ailleurs réversible ; l'excitabilité indirecte est récupérée dès que la préparation est transportée dans une solution pure de NaCl (exempte de toute trace de KCl) ; elle est récupérée également, mais plus tardivement, si on la transporte dans une solution de NaCl contenant du Ca.

Le RubCl, CeCl, NH^+Cl agissent d'une façon analogue aux sels de K.

Les sels de K, Rub, Ca et NH^+ exercent tous une action *curarisante*, c'est-à-dire qu'ils paralysent les *terminaisons motrices* des nerfs (même en présence de sels de Ca), à des concentrations bien plus faibles que celles qui sont nécessai-

(1) Locke, Zentralbl. f. Physiologie, T. VIII, p. 166 1894.

res pour paralyser les muscles squelettiques et les troncs des nerfs moteurs.

Sur la paralysie des terminaisons motrices produite par les sels de K, Rub, Ce, NH_4 , on note que les sels de calcium et de strontium agissent d'une façon antagoniste par rapport aux premiers.

Par contre, les chlorures de magnésium et de baryum n'exercent pas d'action antagoniste comme les sels de calcium et de strontium.

Soit une solution de NaCl à 0,6 — 0,7 p. 100, et contenant en même temps de 0,02 à 0,03 p. 100 de CaCl_2 ; il suffit d'ajouter à cette solution de 0,05 à 0,06 p. 100 de KCl , pour produire une paralysie complète des terminaisons motrices des nerfs, tandis qu'il fallait ajouter à la même solution une proportion d'au moins 0,15 p. 100 de KCl pour amener une paralysie complète des fibres musculaires (sartorius).

Si, dans la solution initiale (de $\text{NaCl} + \text{CaCl}_2$) on augmente la proportion de CaCl_2 , les terminaisons nerveuses peuvent, également, supporter, dans cette solution, la présence d'un peu plus de KCl sans être paralysées. Toutefois, dès que la concentration de ce dernier sel atteint 0,1 p. 100, la paralysie est complète, même si on double la proportion de CaCl_2 .

En dehors des sels de Ca, le plasma du sang normal (de cheval), ne contient pas de combinaison qui soit antagoniste par rapport aux sels de K.

Une solution de BaCl_2 ajoutée à une solution de NaCl dans les proportions de 1 : 50.000, accélère déjà considérablement la perte de l'excitabilité indirecte d'une préparation de gastrocnémien, plongée dans cette solution de NaCl .

Si on ajoute à la solution de NaCl 0,03 p. 100 de CaCl_2 , les terminaisons nerveuses peuvent supporter l'addition de 1 : 20.000 de la même solution de BaCl_2 , sans être paralysées, et peuvent rester dans ce mélange salin pendant plus de cinquante heures, sans subir aucune altération.

Overton se représente de la façon suivante l'utilité du calcium pour le fonctionnement des terminaisons motrices des nerfs et du système nerveux central. Le calcium entrerait dans une substance qui jouerait le rôle d'un chaînon reliant divers éléments des tissus considérés, et quand le Ca

vient à manquer, ces éléments se trouveraient dissociés dans le liquide environnant, par suite de la rupture de ce chaînon. Si maintenant on restitue du Ca à la solution qui baigne le tissu nerveux, la chaîne se rétablit et les éléments se trouvent régénérés dans leur structure primitive. Ce sont là, fait remarquer Boruttan, de simples hypothèses.

Quoi qu'il en soit, l'importance du rôle du calcium n'a pas échappé non plus à Lœb.

Les expériences sur l'excitabilité de contact lui avaient montré que si on modifiait, au moyen d'un sel décalcifiant, les proportions de certains ions métalliques contenus dans le muscle, il en résultait des phénomènes d'excitabilité et de contractilité qui n'existent pas normalement. L'expérience suivante (1) montre que les terminaisons des nerfs sensibles peuvent également acquérir une excitabilité anormale si on les soumet à l'action de substances (comme le citrate de soude), capables de modifier les proportions des ions métalliques contenus dans leurs tissus.

Quand une grenouille décapitée est suspendue à un support et que ses pattes postérieures sont trempées dans l'eau, on n'observe pas de réaction ; trempées dans un acide, elles se retirent violemment. Mais, si avant de tremper les pattes dans l'eau, on les immerge une demi-minute dans du *citrate de soude*, on observe, quand on les plonge ensuite dans de l'eau distillée ou de canalisation, que l'animal les retire en exécutant des mouvements violents.

En ce qui concerne l'action des sels sur les nerfs moteurs des muscles de grenouille, Lœb a noté que les sels précipitant le Ca augmentent l'excitabilité de ces nerfs, vis-à-vis de l'excitation électrique.

Dans leur ensemble, les observations de Mathews concordent avec celles de Lœb. Toutefois, Mathews explique (2) le mécanisme de l'excitabilité, en admettant que les *anions* sont directement excitants, et que leur charge électrique joue un rôle. Lœb pense plutôt « que si les sels qui précipitent le Ca agissent plus énergiquement sur le nerf que $NaCl$, c'est qu'ils sont capables de se combiner fortement aux ions Ca et faci-

(1) J. Lœb. Pflug. Arch., T. XCI, p. 248 1902.

(2) Mathews. Am. Journal of physiol. T. II, p. 455 1904.

litent ainsi l'échange entre les ions Na ou K et les ions Ca ou Mg, dans certaines combinaisons organiques des tissus ».

Mathews (*loc. cit.*), rechercha pour un certain nombre de sels la concentration qui déclenchait la contraction musculaire chez la grenouille, dès que son nerf sciatique était mis en contact avec ladite concentration. En ce qui concerne les sels alcalins terreux, il constata que les sels de Ba étaient fortement excitants, tandis que les sels de strontium et de calcium étaient paralysants ; les sels de métaux lourds sont paralysants.

En s'appuyant sur ce que, indépendamment des anions, presque tous les métaux polyvalents suspendaient l'excitabilité, alors que les sels à cations monovalents entretenaient l'excitabilité nerveuse plus ou moins longtemps, selon les anions qui entraient dans leur constitution, Mathews imagina que c'étaient les anions qui excitaient les nerfs, tandis que les cations exerçaient une action antagoniste ; et comme, d'autre part, les ions exercent une action antagoniste de ce genre sur les colloïdes, Mathews rapporta les processus qui accompagnent l'excitabilité nerveuse à ceux qui se déroulent au sein des colloïdes des nerfs. Toutefois, Höber n'est pas de cet avis. Pour lui, l'action des sels des métaux lourds ne saurait entrer en ligne de compte pour expliquer des phénomènes physiologiques. Les sels *purs* de métaux lourds agissent indifféremment en suspendant toute action cellulaire parce que toute cellule contient en grand nombre des substances albuminoïdes. « Ces précipitations par métaux lourds ne sauraient, en aucun cas, représenter des phénomènes d'arrêt physiologiques, pas plus qu'un coup de marteau qui mettrait une machine en pièces ne saurait être considéré comme un rouage d'arrêt. A ce propos, on ne saurait trop insister ici sur le fait que les processus engendrés par les divers facteurs dont on cherche à faire varier et à analyser le mode d'action sur un phénomène physiologique, tel que l'excitabilité nerveuse, doivent toujours être des processus réversibles. Or, seules les actions de la plupart des sels alcalins neutres et d'une partie de sels alcalino-terreux sont des actions réversibles. C'est pourquoi ces sels sont les seuls dont le mode d'action puisse servir à formuler des déductions touchant la collaboration des colloïdes à l'excitation *normale* du nerf. » (Höber, *loc. cit.*).

Action des mélanges salins. — Actions antagonistes des sels minéraux

Toute solution saline pure est nocive pour les cellules. — **Solution de Ringer.** — Aucune solution saline, lorsqu'elle ne contient qu'un seul sel, ne constitue un milieu idéal pour les tissus vivants. Les œufs d'oursins fécondés sont tués après un court séjour dans des solutions salines pures d'un sel quelconque, alors même que ces œufs seraient immergés dans une solution pure de NaCl . Dans cette dernière solution, les cils vibratils de certains animaux se liquéfient (1). D'autre part, ne sait-on pas, depuis 20 ans, qu'un muscle de grenouille se désorganise plus rapidement dans une solution pure de NaCl à 0,65 — 7 p. 1000 dite « *physiologique* » et isotonique que dans certaines autres solutions salines ?

Sidney Ringer (2) découvrit qu'un muscle immergé dans une solution pure de NaCl présentait rapidement des contractions, et que ces dernières cessaient quand on ajoutait au NaCl une certaine quantité d'un sel de K ou de Ca , faisant normalement partie de la composition du sérum sanguin. L'addition d'un sel de ce genre a également pour conséquence d'augmenter sensiblement la survie du muscle.

Locke (3) confirma les recherches de Ringer et nota que l'excitabilité *indirecte* du muscle par son nerf était également suspendue par l'action d'une solution pure de NaCl , et qu'elle était récupérée par l'addition, à cette dernière, de petites quantités d'un sel de Ca . De sorte qu'aujourd'hui, la solution dite « *physiologique* » de NaCl est remplacée de plus en plus par la solution de Ringer-Locke, contenant dans un litre d'eau de 6,5 à 9,5 grammes de NaCl , 0,2 grammes de KCl et 0,2 grammes de CaCl_2 . On ajoute quelquefois 0,1 gramme de NaHCO_3 .

Dans le règne végétal, les mélanges des sels minéraux ne sont pas moins utiles que dans le règne animal. Mais, à beaucoup de points de vue, les différents ions nécessaires à la vie de la plante, ne jouent pas le même rôle vis-à-vis d'elle que

(1) Voir page 184.

(2) S. Ringer. *Journal of physiolog.* 4, 7, 18, 1883. 1886. 1895.

(3) Locke. *Journal of physiology* 18, 318, 1895 et *Phg. Arch.* 54, 501, 1893.

les ions contenus dans la solution de Ringer jouent vis-à-vis de l'animal. Ainsi les ions SO^4 , — HPO^4 , — HCO^3 , — AzO^3 , — AzH^4 , — Mg , — et Fe , servent à l'édification de la substance organique du corps de la plante et sont des substances nutritives au sens propre du mot, tandis que les autres ions qui entrent dans la composition de la solution « physiologique » des végétaux, c'est-à-dire les ions K et Ca (et souvent aussi Na et Mg), jouent le même rôle ici que dans la solution de Ringer-Locke et leur mode d'action reste encore à étudier ; nous verrons plus loin ce que Lœb pense à ce sujet (1).

Actions antagonistes des différents sels. — Nous venons de voir dans le paragraphe précédent que pour qu'une solution saline entretienne la vie, il faut que cette solution contienne certains sels, non interchangeables et présents dans des proportions définies. Il semble donc que les phénomènes essentiels de la vie aient pour base des processus physico-chimiques *déterminés, préétablis et constants* sans l'accomplissement desquels la vie est impossible.

Mais J. Lœb est allé plus loin encore dans ses investigations sur l'action des sels minéraux. Il a montré que, non seulement ces derniers ne pouvaient être remplacés les uns par les autres, pour l'entretien des phénomènes vitaux, mais qu'ils exercent entre eux *des actions antagonistes*.

Prenons des œufs de *Fundulus* et immergeons-les dans de l'eau distillée pure : nous savons (2) que le nombre des embryons obtenus est presque égal à celui qu'on obtient dans de l'eau de mer normale.

Si, à 100 centimètres cubes de cette eau distillée, on ajoute 4 à 8 centimètres cubes d'une solution de $\text{ZnSO}_4 \frac{\text{N}}{64}$ et que l'on y plonge des œufs de *Fundulus*, il ne se forme pas un seul embryon. Le ZnSO_4 agit donc ici comme un sel toxique.

Reprenons maintenant 100 centimètres cubes d'eau distillée, à laquelle nous ajoutons du NaCl , de façon à en faire une solution de NaCl pure à $\frac{5\text{N}}{8}$; et mettons-y des œufs de

(1) Voir le paragraphe intitulé : *Substances nutritives et substances protectrices*, page 177.

(2) Voir page 121.

Fundulus. Nous constaterons qu'il ne se formera pas plus d'embryons dans cette solution de NaCl , qu'il ne s'en était formé dans la solution de ZnSO_4 . Le NaCl ajouté à l'eau distillée a donc agi de la même manière que le ZnSO_4 , c'est-à-dire en exerçant une action toxique.

Mais si nous prenons 100 centimètres cubes de la solution toxique de NaCl $\frac{5\text{N}}{8}$, et si nous y ajoutons 4 ou 8 centimètres cubes de ZnSO_4 (qui avaient empoisonné l'eau distillée dans notre première expérience), nous verrons qu'il se forme dans ce mélange, presque autant d'embryons que dans l'eau de mer.

On peut conclure de là que si ZnSO_4 annule l'action toxique du NaCl , ce dernier sel annule également l'action toxique de ZnSO_4 . « Ce que nous venons de dire pour une solution de NaCl est vrai pour les solutions de tous les sels de métaux monovalents : B , K , NH_4 , Li . Si on prépare différentes solutions de l'un de ces sels, on découvre vite une concentration à laquelle ce sel est toxique, c'est-à-dire ne permet à aucun œuf fraîchement fécondé de former un embryon. Mais si on ajoute à cette solution toxique d'un sel à cation *monovalent* une proportion déterminée d'un sel à cation *bivalent*, les œufs forment des embryons qui peuvent se développer pendant un certain temps.... Le plus frappant, c'est que cet effet (antitoxique), n'est pas produit seulement par les sels des métaux bivalents contenus dans l'organisme ou inoffensifs : Ca , Mg , Sr , — mais aussi par des cations *toxiques* : Ba , Co , Zn , Pb , etc.

« Des cations *trivalents* : Cr , Al , peuvent aussi *désempoisonner* les solutions des sels à cation monovalent.

« Le cation *tétravalent* Th ne paraît pas agir nettement... » (1).

Mécanisme des actions antagonistes des sels minéraux.
— Nous venons de parler, à l'instant, du rôle antitoxique des cations bivalents et trivalents ; mais quelle est l'action des anions polyvalents ? « Si on ajoute, dit Lœb (2), à une solution de NaCl $\frac{\text{N}}{2}$ un sel de Na à anion polyvalent, par exem-

(1) J. Lœb, loc. cit., p. 96.

(2) Loc. cit., p. 97.

ple Na_2SO_4 , la formation de l'embryon ne se produit que très exceptionnellement. Il y a donc là un fait analogue à celui que nous avons signalé au sujet des solutions colloïdales : un seul groupe d'ions, — généralement les *cations* — produisent un effet déterminé ; les ions de signe opposé étant inactifs ou agissant en sens contraire. » (1).

Voyons maintenant l'importance des rapports *quantitatifs* des sels mis en présence, et essayons de déterminer la *puissance antitoxique* des différents cations.

Commençons par les cations *bivalents*.

Soient 100 centimètres cubes d'une solution pure de NaCl $\frac{5N}{8}$ que nous savons être toxique. Quelle quantité de *cation bivalent* devons-nous faire intervenir pour supprimer cette toxicité ?

L'expérience montre que si nous faisons une solution d'un sel de métal bivalent de concentration égale à $\frac{N}{64}$, c'est-à-dire 40 fois *plus faible* que la solution de NaCl , il suffira d'en prendre 4 centimètres cubes (c'est-à-dire *une quantité 25 fois moindre* que celle dont se compose la solution de NaCl), pour désempoisonner cette dernière.

« Nous pouvons donc dire que pour cette concentration de la solution de NaCl ($\frac{5N}{8}$), un ion de métal bivalent (en supposant que la dissociation soit complète), supprime la toxicité d'environ 1.000 molécules de NaCl . » (2). Si on emploie une solution un peu moins concentrée, il faut une moins grande quantité de sel de métal bivalent pour désempoisonner la solution de NaCl . Si, au contraire, cette dernière est plus concentrée, il faut augmenter la quantité de sel du métal bivalent.

« En somme, la quantité de sel bivalent nécessaire pour *désempoisonner*, augmente avec la concentration de la solution de NaCl , jusqu'à ce qu'on atteigne une concentration pour laquelle il n'est plus possible de supprimer la toxicité de la solution, parce qu'alors la pression osmotique de la

(1) J. Lœb, loc. cit., p. 97.

(2) J. Lœb, loc. cit., p. 98.

solution est trop élevée pour qu'elle ne soit pas nuisible aux cellules. Il ne semble pas, d'ailleurs, qu'il y ait une proportionnalité rigoureuse entre la concentration de NaCl et celle du sel antitoxique. » (1).

Voyons maintenant quelle est la puissance antitoxique des *cations monovalents*.

Soient 100 centimètres cubes d'une solution toxique de $\text{ZnSO}_4 + \frac{\text{N}}{400}$. Pour la rendre inoffensive, il faut ajouter une quantité de NaCl telle qu'on finit par avoir une solution dont la concentration en NaCl est environ $\frac{\text{N}}{8}$. Il faut donc, pour désempoisonner une molécule de ZnSO_4 , environ 50 molécules de NaCl . Ceci, dit J. Lœb, nous permet de répondre à la question de Hamburger, qui se demande pourquoi, seuls, les cations bi ou trivalents, sont désintoxicants. En effet, « l'inégalité énorme entre l'action des cations bivalents et celle des cations monovalents, permet de comprendre pourquoi on ne peut pas désempoisonner une solution de NaCl $\frac{5\text{N}}{8}$ par un sel à cation monovalent. Il faudrait, pour y arriver, atteindre une concentration si élevée, que la pression osmotique d'une telle solution suffirait à compromettre la vie.

« L'action antagoniste de deux sels à métal *bivalent* est moins nette. L'action toxique de 10 centimètres cubes de MgCl_2 à $\frac{5\text{N}}{16}$ est diminuée par l'addition de 1 à 2 centimètres cubes de SrCl_2 à $\frac{5\text{N}}{16}$. » (2).

Hypothèse de Lœb sur le mode d'action des cations à fonction antitoxique. — Lorsqu'un œuf ou un embryon se trouve dans une solution de NaCl pure $\frac{\text{N}}{2}$, il pénètre rapidement dans l'œuf une trop grande quantité de NaCl ; il se produit alors des phénomènes de cytolyse, dont nous avons parlé plus haut (3). « Si on ajoute à cette solution 4 centi-

(1) Ibid.

(2) J. Lœb, loc. cit., p. 99.

(3) Voir page 124.

mètres cubes de $\text{ZnSO}_4 \frac{\text{N}}{64}$, beaucoup de ces œufs, nous l'avons vu, forment des embryons ; *mais ces embryons ne vivent que quelques jours*. Si, au contraire, nous ajoutons à la solution de NaCl du CaCl_2 , les embryons vivent beaucoup plus longtemps ; ils peuvent même achever leur évolution.

« Nous voyons donc que l'action toxique du ZnSO_4 n'est pas complètement annulée, mais seulement diminuée par NaCl ... Ces faits semblent indiquer qu'en réalité, l'action toxique de ZnSO_4 s'exerce même en présence du NaCl , ce dernier ayant simplement pour effet d'empêcher ZnSO_4 de diffuser aussi vite que s'il était seul... » De même, « si nous ajoutons du ZnSO_4 à une solution de NaCl , la vitesse de diffusion de NaCl diminue et l'embryon reste plus longtemps vivant. La signification de cette série d'expériences consisterait donc en ce qu'elle nous montre (si notre hypothèse est justifiée), que les sels de métaux *bivalents* peuvent diminuer la vitesse de la diffusion des sels de métaux monovalents, vers l'intérieur de l'œuf et réciproquement ; — et que des quantités très faibles de sel bivalent suffisent à produire, à cet égard, le même effet que des quantités très fortes de sel monovalent » (1).

Cette hypothèse, d'après laquelle l'action antitoxique des sels résulterait au moins en partie d'un ralentissement de leur diffusion, se trouverait encore confirmée, d'après Lœb, par les faits suivants :

Les solutions faites avec la plupart des sels à métaux bivalents, sont rendues inoffensives pour les œufs de *Fundulus*, par l'addition de NaCl ; mais les solutions faites avec les chlorures des métaux bivalents les plus toxiques (Hg et Ca), semblent faire exception à cette règle. Lorsqu'on ajoute à leurs solutions du NaCl et que l'on soumet les œufs à l'action de ces solutions, les œufs meurent par coagulation, avant de pouvoir former un embryon. « Ce fait s'accorde avec l'hypothèse d'après laquelle NaCl ralentirait, mais n'arrêterait pas complètement la diffusion de HgCl_2 et des CuCl_2 . En raison de l'action coagulante extrêmement énergique de ces sels, il suffit que l'œuf en contienne des traces pour qu'il meure

(1) J. Lœb, loc. cit., p. 99 et suivantes.

immédiatement. Au contraire, des sels moins toxiques, tels que ceux de Zn et de Ba , ne déterminent la mort que lorsque des quantités plus grandes ont pénétré dans l'œuf, et pendant que s'accomplit cette diffusion, l'œuf a le temps de former un embryon.

« Höber et Gordon ont fait remarquer qu'un antagonisme de même genre entre les sels de métaux monovalents et ceux de métaux bivalents a été signalé, en ce qui concerne les colloïdes, par Linder et Picton. Linder et Picton ont montré que si on précipite le sulfure d'arsénic colloïdal par un mélange de deux sels à cation monovalent, ou de deux sels à cation bivalent, les effets des deux sels s'additionnent purement et simplement ; mais que si on précipite avec un mélange d'un sel à cation monovalent et d'un sel à cation bivalent, il n'y a pas sommation, mais inhibition réciproque des effets : « Höber et Gordon ont répété et confirmé cette observation. Ils ont trouvé, en outre, que la valence de l'anion ne semble jouer aucun rôle : résultat qui est conforme à ceux de mes expériences. » (1).

D'autre part, Mathews (2) a fait observer, d'après ses patientes recherches sur les œufs de *Fundulus*, qu'il fallait faire intervenir dans l'action antitoxique des cations, un facteur plus important que leur valence : c'est-à-dire leur *tension de dissolution*.

Les recherches citées plus haut sur les sels à cations antitoxiques ont été faites sur des œufs de *Fundulus*. Les résultats ne sont pas les mêmes lorsqu'on s'adresse au *Fundulus lui-même*. « Si nous laissons des œufs se développer dans de l'eau de mer ou dans de l'eau distillée jusqu'à ce que les embryons soient éclos, et si nous mettons alors les jeunes poissons dans une solution de $NaCl \frac{N}{2}$, ils meurent en peu d'heures (3). Si on ajoute la même proportion de $ZnSO_4$ qui désempoisonnait la solution pour les œufs, les poissons meurent encore plus vite que dans la solution de $NaCl$ pure....

(1) J. Lœb, loc. cit., pages 100 et suivantes ;
Höber et Gordon in Hofmeister's Beiträge zur chem. Physiol. und Pathol. V, 432, 1904. -

(2) Mathews, Americ. Journ. of physiol. 12, 419 ; 1905.

(3) J. Lœb. Americ. journ. of physiology T. III, p. 327 et 383, 1900.

Tandis que, dans le cas de l'œuf, il suffit, pour désempoisonner une solution de NaCl $\frac{\text{N}}{2}$ d'une petite quantité d'un sel de métal bivalent, par exemple de calcium (1), si on opère sur le poisson développé, il faut, non seulement du calcium, mais du K. C'est là, semble-t-il, une règle générale pour tous les animaux marins. Peut-être le K sert-il à annuler une action secondaire nuisible du Ca. Mais il se peut aussi que l'élimination des sels soit, au moins en partie, fonction des mêmes forces cellulaires qui déterminent la sécrétion ou la contractilité en général : nous verrons, en effet, que pour ces derniers phénomènes NaK et Ca doivent être réunis dans une certaine proportion...

« Les faits constatés sur l'œuf de *Fundulus* permettent peut-être d'expliquer les expériences sur le *gammarus* dont il a été question plus haut (page 124). — D'après Traube, il est nécessaire, pour que des cellules vivent, qu'elles puissent exécuter, sans perturbations, leur travail chimique, autrement dit, qu'elles perdent et absorbent peu de sels.

« Les observations faites sur l'œuf du *Fundulus* et sur le *Fundulus lui-même* amènent à penser que de l'eau de mer, ou, d'une façon générale, des solutions contenant 100 molécules de NaCl, 2 molécules de KCl et 2 molécules de CaCl_2 réalisent, d'une façon suffisante, cet isolement de la cellule : autrement dit, ces solutions semblent annuler la vitesse de diffusion des sels dans le sens de l'entrée ou dans celui de la sortie, ou, en tout cas, la diminuer assez pour que l'activité de la sécrétion suffise à compenser les effets de cette

(1) « par exemple de Calcium » ; on voit par ces mots que dans l'esprit de Lœb, c'est la question de valence du cation qui intervient seule dans le phénomène. Or, nous avons vu que d'après ses propres recherches, l'addition de ZnSO_4 à une solution de NaCl $\frac{\text{N}}{2}$ ne désintoxiquait cette dernière qu'incomplètement vis-à-vis d'œufs de *Fundulus* alors que l'addition d'un sel de Ca (CaCl_2) permettait aux embryons d'achever leur évolution (page 170). Si la valence des cations entre seule en jeu, pourquoi un sel de Ca n'agit-il pas d'une façon identique à un sel de Zn ? Rapprochons maintenant ces faits de ceux observés sur les *gammarus* et le *fundulus lui-même* (voy. page 124) faits qui démontrent la nécessité de la présence de Na, K, et Ca pour entretenir la survie de ces animaux, et ne serons-nous pas près d'admettre, sans nier l'importance de la bivalence des cations, que les sels de Ca exercent encore une action qui leur est spécifique et qui les rend inremplaçables par d'autres cations bivalents ? Höber fait d'ailleurs observer (Physik. chem. p. 437) que les cations jouent un rôle chimique en même temps qu'un rôle physique.

diffusion. Si, au contraire, les cellules sont en présence d'une solution de NaCl seul, il y a une diffusion rapide, — peut-être par suite d'une augmentation normale de la perméabilité, — et le protoplasma est altéré ou tué.

« Il y a donc des membranes animales qui fonctionnent conformément à la théorie de Traube dans l'eau douce ou dans l'eau distillée, et d'autres qui fonctionnent de cette manière dans l'eau de mer ou également dans les deux cas. En ce qui concerne les animaux marins, il faut faire intervenir, dans la discussion de cette question, les actions antagonistes des sels, que nous venons d'exposer. » (1).

Rôle que jouent les cations dans les phénomènes vitaux. — **Substances nutritives proprement dites et substances protectrices.** — Nous avons vu dans les paragraphes qui précèdent :

1° Que les sels minéraux étaient nécessaires à l'entretien de la vie ;

2° Qu'ils obéissaient à des lois qualitatives et quantitatives déterminées ;

3° Et enfin qu'ils pouvaient exercer les uns sur les autres des actions antagonistes.

Il nous reste à voir maintenant quelle action les sels minéraux exercent, non plus les uns sur les autres, mais sur les éléments cellulaires, avec lesquels ils sont en rapport.

Le rôle des anions paraît assez facile à établir. Les ions AzO^3 , SO^4 , PO^4 servent à la synthèse des albuminoïdes ; les ions PO^4 sont nécessaires à la formation de la nucléine. Mais le rôle que jouent les cations est moins aisé à déterminer.

« Vraisemblablement, le K doit exister chez les plantes et les animaux à l'état de combinaison non dissociable ; on sait, en effet, que malgré la très faible teneur en K de l'eau courante, les plantes d'eau douce sont capables d'en retenir de grandes quantités dans leurs tissus. Ce fait ne peut se comprendre qu'en admettant que ces plantes éliminent les ions K en les faisant entrer dans des combinaisons organiques, de sorte que la pression osmotique des ions K à l'intérieur

(1) J. Lœb. In *Dynamique*, etc., p. 100-102.

de la plante, reste constamment plus basse que celle qu'ils ont dans la rivière. » (1).

Pour les autres cations, les faits observés sont d'une interprétation plus difficile.

On sait que Raulin entreprit une série d'expériences sur *l'aspergillus niger*, dans le but de rechercher quelle devait être la composition d'une solution nutritive optimale pour la nutrition des champignons. Après avoir trouvé cette solution, il se proposa de déterminer l'influence qu'exerçait chacun des éléments de la solution sur le rendement de la récolte. Il établit ainsi le tableau suivant dont les nombres indiquent de combien le montant de la récolte en substance solide était plus élevé en présence de l'élément considéré qu'en son absence.

AzH ³ .	PO ³ .	Mg.	K.	SO ⁴	Zn.	Fe.	SiO ²
153	182	91.	25	25	10	2,7	1,4

On voit, d'après ce tableau, que lorsqu'on supprime les traces de Zn que contenait la solution optima, la récolte diminue au point de n'avoir plus que 1/10 de la valeur qu'elle avait en présence du Zn. Cependant, remarque Loeb, le Zn n'est sûrement pas un constituant nécessaire à la substance vivante. D'autre part, « l'absence de fer dans la solution nutritive n'amène qu'une diminution relativement minime de la récolte, fait frappant, car le fer semble nécessaire à la constitution de la substance nucléaire.

« Nous sommes ainsi amenés à penser qu'il est possible que la solution nutritive nécessaire à une plante ne contienne pas seulement les substances qui sont nécessaires à la construction de la substance vivante (comme, par exemple, la plupart des anions et enions K, Mg et AzH³), mais encore des substances qui, sans jouer un tel rôle, ont cependant leur importance. Par exemple le zinc dans la solution de Raulin.

« Quel est donc le rôle de ces cations ?... Mes recherches m'ont amené à penser qu'il existe deux sortes de substances dans les solutions nutritives :

(1) J. Loeb, loc. cit., p. 134.

les substances *nutritives* proprement dites,
et les substances *protectrices*.

Citons parmi les premières : $\text{AzH}^+\text{CO}_3^-$, PO_4^- , SO_4^- et vraisemblablement aussi (du moins pour certains organes) K^+

« Il y a deux métaux qui sont d'une importance toute spéciale pour tous les animaux et qui manquent complètement dans la solution de Raulin, ce sont Na et Ca

« Je crois donc que ces sels jouent, au moins en partie, le rôle de substances protectrices, en ce que leur absence amène une modification de la structure physique ou d'autres propriétés des cellules. C'est ce que rendent particulièrement net les recherches sur les animaux marins...

« Nous avons déjà vu que les *gammarus* (page 124), vivent dans l'eau de mer, meurent dans l'eau distillée au bout d'une heure environ, parce qu'elle ne contient pas de sel de Na , K , Ca , ni de Mg (les sels de magnésium sont, d'ailleurs, beaucoup moins nécessaires que les autres).

« Comme anion, le chlore suffit. En l'absence de Na , de K ou de Ca , l'animal ne vit que quelques heures, quelle que soit, d'autre part, la formule de la solution. Dans un mélange de NaCl , KCl , CaCl_2 , il peut vivre deux jours environ, et plus encore, si on ajoute du MgCl_2 . Mais on ne saurait admettre que la mort si rapide, en l'absence des trois cations Na , K , Ca — elle se produit, dans ce cas, au bout d'une heure — soit due à ce que l'animal utilise ces sels pour la synthèse de la substance vivante. Il n'est pas vraisemblable non plus, d'après les recherches exposées plus haut sur la diffusion des sels hors du corps, que l'organisme perde plus que des traces de ces sels, en un temps aussi court. Il y a plutôt lieu de supposer qu'en l'absence de ces sels, il se produit des modifications physiques du protoplasma qui changent la perméabilité ou rendent la vie impossible de quelque autre manière.

« Cette conclusion s'appuie sur le fait qu'on peut diluer l'eau de mer jusqu'à tripler environ son volume sans compromettre la vie des *gammarus*. Seule une dilution à 10 volumes produit rapidement la mort.

Si l'appauvrissement en sels des animaux était la cause de leur mort, une dilution au double de l'eau de mer devrait également amener la mort, quoique plus lentement. Or, ce

n'est pas le cas. Les solutions artificielles, dans lesquelles NaCl , KCl , CaCl^2 , sont contenus dans le même rapport que dans l'eau de mer, agissent comme cette dernière, lorsqu'on les dilue.

« Tout cela indique bien qu'il se produit des modifications dans l'état physique des cellules ou dans certaines de leurs parties. Les phénomènes de cytolysc, qui réduisent rapidement à leur stroma les œufs d'oursin placés dans des solutions de concentration trop faible ou trop forte, confirment également cette conclusion.

« Mes recherches sur les substances nécessaires à la régénération et à la croissance chez *Tubularia* m'ont donné des résultats tout à fait analogues. Les polypes vivent dans une solution qui contient NaCl , KCl , CaCl^2 , MgCl^2 , dans les rapports où ils se trouvent dans l'eau de mer, soit : pour 100 molécules de NaCl , 2 mol. CaCl^2 ; 2,2 mol. KCl et 7,8 mol. MgCl^2 . En l'absence de l'un des trois premiers sels, il n'y a pas de régénération, mais l'animal meurt rapidement. (Il y a encore une substance nécessaire à la croissance, c'est le bicarbonate de soude CO^+NaH , qui maintient la neutralité de la solution...).

« Si on dilue l'eau de mer au double de son volume avec de l'eau distillée, la vitalité n'est que diminuée ; de même avec une solution nutritive artificielle. Mais si on dilue au triple, la mort se produit bientôt, et, dans ce cas, des modifications de structure physique sont immédiatement visibles (cytolysc ?)

« Les conditions nécessaires au développement des œufs de *strongylocentrotus lividus*, sont tout à fait analogues. En première ligne, NaCl , KCl , CaCl^2 sont indispensables, car, en l'absence de l'un de ces sels, la segmentation ne se fait pas, même si tous les autres constituants de l'eau de mer sont présents dans la solution. Une substance comme NaHCO^3 , capable de maintenir la neutralité de la solution, est également nécessaire pour le développement de ces œufs. Mg et SO^4 sont utiles si on veut avoir un développement parfait, mais leur absence est loin d'être aussi nuisible que celle de Na , K ou Ca . On peut donc, en somme,, considérer comme suffisante pour le développement des larves d'oursin, une solution nutritive contenant NaCl , KCl , CaCl^2 , MgCl^2 , MgSO^4 .

NaHCO_3 . D'autres constituants de l'eau de mer Fe , PO_4 sont sans importance. Ici encore, nous ne pouvons guère considérer les substances *nécessaires* comme étant des substances *nutritives*, puisque les animaux empruntent leurs aliments à des plantes. » (1).

Il est intéressant de faire observer que des recherches récentes faites sur l'influence des solutions salines sur des organes séparés de l'organisme, ont abouti à des résultats concordants, parfaitement avec ceux que nous venons de relater.

Rogers a constaté que le cœur isolé d'un crabe marin conservait longtemps son activité dans l'eau de mer ; cette dernière est plus propice encore à la conservation de l'activité du cœur, quand on y ajoute du calcium. Chose curieuse, les tissus des animaux terrestres, comme ceux de la grenouille, de la tortue et des vertébrés, en général, exigent, pour être maintenus en vie, une solution qui ne diffère que par la concentration de celle qui convient aux *gammarus* et aux *Tubularias*.

La concentration de la solution saline optimale pour la conservation des tissus des animaux terrestres, est environ celle d'une solution de NaCl $\frac{\text{N}}{8}$.

Ringer, Rusch, Locke, Abderhalden ont fait également des recherches sur la conservation des tissus dans les solutions salines. « Il est très remarquable de constater, dit Lœb (1), que la solution la mieux appropriée pour permettre la survie des tissus animaux comme le cœur, correspond parfaitement à celle qui est la meilleure pour les animaux marins comme *gammarus* et *Tubularia*. En effet, si nous convertissons les chiffres de Locke ou d'Abderhalden en chiffres exprimant la concentration en molécules grammes, nous obtenons les mêmes rapports entre les quantités de NaCl , KCl , CaCl_2 que ceux qu'on trouve pour tous les animaux marins, soit environ 100 molécules NaCl , 2 molécules KCl , 2 molécules CaCl_2 ...

« Que le mélange 100 mol. NaCl , 2 mol. KCl , 2 mol. CaCl_2 ne joue pas le rôle d'une *solution nutritive*, mais en première

(1) J. Lœb. Dynamique, etc., p. 136 à 140.

ligne, celui d'une *solution protectrice*, nécessaire pour conserver certaines propriétés physiques de la substance vivante, c'est ce qui ressort bien des faits suivants...

« Les larves écloses de *Fundulus* vivent aussi bien dans l'eau distillée que dans l'eau de mer. Ce fait prouve que la nutrition de ces animaux n'est liée, en aucune façon, à l'un quelconquē des sels contenus dans l'eau.

« Placés dans une solution pure de NaCl , à la concentration qu'il a dans l'eau de mer, environ $\frac{N}{2}$ ou $\frac{5N}{8}$, les poissons meurent en moins de douze heures. Si on ajoute un peu de CaCl_2 , ils ne vivent pas plus de 24 heures. Pour les conserver longtemps en vie — plus de 10 jours dans mes expériences, il faut employer une solution contenant environ 100 molécules NaCl , 2 mol. KCl , 2 mol. CaCl_2 . Or, telle est la solution qui paraît convenir, en général, à tous les organismes.

« Ce résultat indique bien que cette association de molécules qui constitue le noyau de toutes les solutions nutritives animales, ne fonctionne pas, en réalité, comme « *nutritive* », mais comme « *protectrice* ».

« Les animaux empruntent leurs sels à leur nourriture. Les animaux marins peuvent peut-être puiser dans l'eau de mer une partie des sels dont ils ont besoin. En tout cas, les plantes marines empruntent certains anions à l'eau de mer, de même que K , Mg , Ca , là où ce dernier est nécessaire. Les plantes d'eau douce font de même. Mais l'exemple de ces dernières montre justement que là où il s'agit de prendre des substances nécessaires à la nutrition, la concentration du milieu extérieur importe peu, comme on peut le remarquer chez les animaux, par rapport à NaCl , KCl et CaCl_2 . Cela me semble être encore un indice montrant que les substances, dont la présence est nécessaire dans les solutions destinées aux animaux, ne fonctionnent pas en première ligne comme *substances nutritives*. »

Lœb fait encore observer (loc. cit., page 143), que les *sels de soude*, accessoires pour les plantes, ont une importance incontestable pour les animaux. « Nous devons donc supposer, dit-il, que le sodium est peut-être en rapport avec les

(1) J. Lœb. Dynamique, etc., p. 141 et suivantes.

fonctions qui distinguent l'animal de la plante, notamment les processus de contraction rapide, dans lesquels les muscles et les nerfs jouent un rôle et qui (en tant que contractions cardiaques, mouvements respiratoires) sont indispensables à l'animal, tandis qu'ils manquent chez la plante. »

Influence des mélanges salins sur les mouvements ciliaires. — Nous avons vu plus haut (page 157) que les sels alcalins influencent défavorablement les mouvements ciliaires en diminuant la *consistance* des cils qu'ils arrivent même à liquéfier en partie (1). Mais quelle est l'action sur les cils vibratils des *mélanges* d'électrolytes ?

Lillie a constaté sur les larves d'*Arenicola*, que l'action très nocive d'une solution pure de NaCl était combattue par n'importe quel sel à cation bivalent (à l'exception de Hg) : par cette addition, les cils sont préservés contre leur liquéfaction, par conséquent, contre la dissolution de leurs colloïdes. En opérant avec une solution de NaCl à $\frac{N}{2}$ d'une part,

et avec des solutions de sels antagonistes à $\frac{N}{200}$ d'autre part, on constate que les cations se rangent dans l'ordre suivant, en commençant par ceux qui exercent l'action antitoxique la plus marquée.

Mg, Ba, Ca, Sr, Mn, Co, Ni, Cd, Pb, Zn, Cu, UO². Or, c'est, exception faite pour la place occupée par le Zn et le Cd, l'ordre dans lequel se rangent ces mêmes cations du point de vue de la tension de dissolution électrolytique qu'ils exercent.

Les cations trivalents se rangent dans l'ordre suivant en commençant par les plus antitoxiques :

Al, Cr, Fe, et enfin, Thor.

La concentration antitoxique optima des sels alcalins est à peu près égale à $\frac{1}{100}$ N. Celle des sels des métaux lourds répond environ à $\frac{1}{1.600}$ N. Celle des métaux trivalents à

(1) Ralph. S. Lillie. Americ journal of. physiol. 10, 419 ; 1904, et 17, 89 ; 1906. 5, 56 ; 1901. — 7, 25, 1902.

$\frac{1}{25.600}$ N ; enfin, la concentration optima des métaux tétravalents oscille entre $\frac{1}{100.000}$ N et $\frac{1}{200.000}$ N.

En résumé, les cations tri et tétravalents agissent à des doses infiniment plus faibles que les cations bivalents. Il est impossible de méconnaître les rapports entre la fonction antagoniste des sels d'une part, et leur charge électrique, leur valence, leur tension de dissolution d'autre part.

En étudiant l'action antitoxique des différents cations sur les cellules épithéliales des branchies de *Mytilus*, soumises à l'action nocive d'une solution de NaCl, Lillie a noté que les cations bivalents se rangeaient dans le même ordre que dans les expériences faites sur les cils de larves d'arenicola. Nous voyons ici, que du point de vue de leur action antitoxique, les sels se rangent dans le même ordre que lorsqu'il s'agissait de leur action précipitante sur les colloïdes.

D'autre part, Höber fait remarquer que dans les expériences de Lillie sur les mouvements ciliaires, les différents cations n'exercent leur action antitoxique que vis-à-vis des sels de Na et de Li ; ils n'ont pas d'influence contre l'action nocive des solutions de K et de NH⁺ alors que, dans les expériences faites sur les œufs de *Fundulus* l'addition de sels à cations multivalents produisait une action antitoxique envers tous les sels alcalins.

Notons encore la remarque suivante faite par Lillie ; c'est que les sels alcalins exercent sur les cils une action gonflante (ou liquéfiante) avec une intensité qui varie avec leurs anions. Les solutions pures et isotoniques des chlorures de Mg, Ba et Ca, produisent également un gonflement des cils. Par contre les solutions de sels de métaux lourds produisent des coagulations dans les cellules et des troubles coagulatifs des cils suivis d'un arrêt brusque des mouvements ciliaires. Seul le *MnCl* produit le gonflement ciliaire ; il se rapproche ainsi des sels alcalins terreux. Enfin, inversement, l'un de ces derniers, le *SrCl*, produit une coagulation des cils. Il existe donc en somme deux modes d'empoisonnement : un empoisonnement *par gonflement*, et un empoisonnement *par coagulation*. Ces deux modes d'action sont opposés l'un à l'autre ; et c'est ce qui explique que dans un mélange approprié

de sels qui, séparément, agiraient en sens contraire, ces sels, mélangés, peuvent exercer une action désintoxicante. Cependant la théorie qui fait dépendre l'action toxique des sels d'une altération dans la consistance des colloïdes, et qui explique l'action anti-toxique des mélanges salins par les influences opposées que les deux sels exercent sur les colloïdes, cette théorie est en défaut par ce fait que les sels alcalins et la plupart des sels alcalino-terreux (y compris $MnCl^2$) exercent des actions physiologiques antagonistes quand ils sont mélangés, alors que ces sels employés séparément, agissent les uns et les autres par gonflement.

Importance des anions dans les mélanges d'électrolytes.
L'action des anions a été fort peu étudiée jusqu'à présent. Lœb (1) avait d'abord pensé que les anions jouaient un rôle prépondérant dans l'antagonisme exercé par les sels les uns sur les autres. Mais des expériences ultérieures (2) l'amenèrent à modifier ses premières impressions. Il lui a semblé que l'influence des anions était liée exclusivement à leur propriété de former avec le calcium des sels insolubles. Le calcium faisant partie des composants normaux du protoplasma, sa précipitation par les sels qui le précipitent serait la véritable cause des troubles fonctionnels engendrés par ces sels. Cependant Höber fait observer (3) :

1° qu'il n'y a nullement parallélisme constant entre l'action précipitante d'un sel pour le calcium et son action toxique ; et

2° que cette action précipitante, quand elle existe, ne saurait s'exercer sur le calcium contenu *dans* la cellule, puisque les sels n'y pénètrent pas et n'entrent en réaction avec la cellule qu'à sa surface.

Lœb (4) suppose que toutes les fois qu'une modification dans le milieu extérieur d'une cellule ou d'un organe (et principalement en ce qui concerne les proportions de Na, K, Ca ou Mg) a pour conséquence un trouble fonctionnel, ce dernier résulte du changement qui s'est produit dans le mé-

(1) J. Lœb. American. journal of physiol. 6, 411, 1902.

(2) J. Lœb. Pflug. Arch. 91, 248 ; 1902.

(3) Höber. Physik. Chem., etc., p. 443.

(4) J. Lœb. Oppenheim. Handbuch der Biochem. 2, 1, page 204 1910.
Dynamique des phénomènes de la vie. Leipzig. 1906.

lange des sels contenus à l'intérieur de l'élément envisagé. Mais Höber pense que les troubles fonctionnels d'un tissu doivent être rapportés à des modifications *physico-chimiques au niveau de la surface cellulaire* bien plutôt qu'à des modifications *chimiques* qui se manifesteraient à l'intérieur de la cellule. Höber ajoute d'ailleurs (loc. cit.) que les notions que nous possédons sur la chimie physique des colloïdes sont beaucoup trop élémentaires pour que nous puissions élaborer des conclusions définitives touchant les phénomènes dont il vient d'être parlé.

Interchangeabilité des cations dans les mélanges d'électrolytes. Il ne faudrait pas croire qu'en supposant que des traces de *Ca* ou de *Mg* désempoisonnent des solutions de *NaCl* grâce à leur double charge positive, on ait complètement élucidé l'action antagoniste des sels minéraux. Car si cette hypothèse était suffisante, les ions *Ca* et *Mg* pourraient être remplacés par n'importe quel cation bivalent. Or, ce n'est nullement le cas.

Lœb (1) a établi lui-même que les *fundulus adultes* n'étaient pas rendus insensibles à une solution de *NaCl* par l'addition à cette dernière de *ZnSo⁴*, alors que l'action antitoxique de ce dernier sel s'était montrée si efficace sur les œufs de *fundulus*. Plus tard, Lœb et Herbst constatèrent encore que les faits observés sur les œufs de *fundulus* ne s'appliquaient nullement aux œufs d'oursins ; de sorte que Höber se demande si les cas dans lesquels les propriétés *physiques* des solutions ont paru jouer un rôle plus important que leurs propriétés *chimiques* ne sont pas des cas exceptionnels.

Les recherches que nous allons maintenant résumer montrent que l'interchangeabilité des sels est en somme assez restreinte en ce sens que les cations alcalino-terreux peuvent seuls être remplacés les uns par les autres, à l'exclusion des métaux lourds qui sont cependant bivalents comme les métaux alcalino-terreux.

Ainsi Osterhout (2) a constaté que des grains de blé ne se développent pas dans des solutions pures de *NaCl* ou de

(1) J. Lœb. American journal of physiol. 3 327 et 383. 1900.

(2) Osterhout. Univ. of California publications Botany. 2, 317 ; 1907.

KCl, alors que leur croissance a lieu dans ces mêmes conditions dès que l'on y ajoute un peu de CaCl^2 . On peut remplacer CaCl^2 par BaCl^2 ou SrCl^2 ; mais les sels de métaux lourds sont inutilisables pour rendre les solutions de NaCl et KCl non toxiques.

Molisch (1) a fait des constatations analogues.

Mac Callum (2) a noté que l'hémolyse des globules rouges provoquée par la saponine est arrêtée par l'addition de Ca, Sr ou Ba.

Lœb (3) immobilise une méduse (polyorchis) en sectionnant le pourtour de l'ombrelle qui contient le système nerveux de l'animal. Si on place cette méduse ainsi immobilisée dans de l'eau de mer ou dans de l'eau sucrée auxquelles on a ajouté du CaCl^2 , SrCl^2 ou BaCl^2 , les contractions rythmiques se produisent à nouveau.

Enfin Höber (4) a observé que les sels de K et de Rb perdent leur propriété de produire sur le muscle un courant de repos dès qu'on leur ajoute des traces de sels de Ca, de Sr ou de Ba.

Dans les expériences que nous venons de relater, nous avons vu que le Ca pouvait être remplacé indifféremment par Sr ou Ba. Dans celles que nous allons citer maintenant, le Sr seul pourra remplacer le Ca, tandis que le Ba sera inutilisable comme désintoxicant.

Overton (5) a constaté que l'excitabilité des muscles de grenouille, diminuée par leur séjour dans les solutions hypertoniques de NaCl ou dans des solutions contenant de petites quantités de KCl, de NH_4Cl ou de RbCl , était conservée par l'addition d'un peu de CaCl^2 . D'après ce même auteur, SrCl^2 a les mêmes propriétés que CaCl^2 , mais pas BaCl^2 . En rapprochant ces faits de ceux observés par Höber sur le courant de repos, nous voyons que les propriétés électriques et l'excitabilité du muscle ne sont pas influencées d'une façon parallèle par les sels minéraux.

Il résulte des observations de Lillie (6) que des larves

(1) D'après Benecke. Ber. d. deutsch. bot. Geselloch. 25, 322 ; 1907.

(2) Mac Callum. Univers. of. California public. physiol. 2, 93 ; 1905.

(3) J. Lœb. journal of biol. chem. 1, 427 ; 1906.

(4) R. Höber. Pfl. Arch. 106, 599 ; 1905. — 120, 492 ; 1907.

(5) Overton. Pfl. Arch. 105, 176 ; 1904.

(6) Lillie. Americ. journal of physiol. 24, 459 ; 1909.

d'arenicola immergées dans une solution isotonique de $MgCl^2$ subissent un arrêt de leurs mouvements. Transportés dans une solution pure de $NaCl$, elles restent presque complètement immobiles ; mais leurs mouvements réapparaissent dès qu'on ajoute à la solution de $NaCl$ du $CaCl^2$ ou $SrCl^2$. Par contre le $BaCl^2$ n'exerce pas cette action favorable.

Ianuschk (1) a constaté que les symptômes d'intoxication produits par l'acide oxalique (et principalement les troubles cardiaques qui sont la conséquence de cet empoisonnement) sont combattus par l'addition de Ca ou de Sr , mais non par l'addition de Ba .

Enfin il existe un certain nombre d'expériences dans lesquelles le Ca ne peut être remplacé par aucun autre métal alcalino-terreux. Ainsi Hamburger et de Haan (2) ont montré que parmi les métaux alcalino-terreux, le Ca était le seul qui augmentât le pouvoir phagocytaire des leucocytes dans une solution de $NaCl$ à 9 p. 1000.

Herbst (3) a pu établir que lorsque de jeunes anguilles sont élevées dans un milieu donné, le Ca exerçait sur leur développement une action qui ne pouvait être exercée par aucun autre métal.

Enfin Lillie (4) a démontré que chez les *cténophores*, l'arrêt du mouvement rythmique consécutif à une excitation mécanique était lié à la présence de Ca , et que ni le Sr ni le Ba ne pouvaient remplacer le Ca à ce point de vue. On voit donc qu'il n'est pas possible d'admettre pour tous les faits l'explication de Lillie-Löb d'après laquelle les sels de métaux bivalents agiraient uniquement par la valence de leur cation.

Höber pense qu'il est possible que dans les cas où les sels alcalins purs provoquent une liquéfaction des tissus, les sels alcalino-terreux aient la propriété de consolider les colloïdes de la membrane plasmique ; et dans ce cas, où l'action des cations est surtout une action physique, ces derniers peuvent être remplacés les uns par les autres. Mais lorsqu'il s'agit de phénomènes d'excitation, par exemple, où les pro-

(1) In Hans Meyer. München, med. Wochenschr. 44 1910.

(2) Hamburger et de Haan. Biochem. Zeitschrift 24, 470 ; 1910.

(3) Herbst. Arch. f. Entwicklungs mechanik 17, 482 ; 1904.

(4) Lillie, Americ. journal of physiol. 21, 200 ; 1908.

cessus qui se déroulent doivent être réversibles et évoluer avec rapidité, il faut que les éléments tissulaires acquièrent une consistance spéciale qui ne soit ni plus durable ni plus solide que celle obtenue précisément par l'action des sels alcalino-terreux, et, en particulier, du calcium. Les métaux alcalino-terreux ne sauraient, dans ce cas, être remplacés par d'autres cations bivalents.

Action du calcium. — L'étude de l'action spéciale des sels de calcium semble d'ailleurs confirmer cette manière de voir. Il est très probable, par exemple, que les sels de K et de Rb diminuent l'excitabilité musculaire en produisant une désagrégation des colloïdes de la membrane plasmique. Or, le calcium agissant comme antagoniste de ces deux sels, il est naturel de penser que le calcium *consolide* les colloïdes de la membrane plasmique. (Höber). D'autre part, s'il est exact, comme nous l'avons supposé, que la saponine provoque l'hémolyse en exerçant une action solvante sur certains colloïdes de la membrane plasmique, l'action anti-hémolytante du calcium (Mac Callum) peut s'expliquer en admettant que ce dernier possède la propriété de précipiter ces mêmes colloïdes. Cette hypothèse expliquerait encore que des cellules d'œuf d'échinodermes, d'abord agglutinées entre elles, se séparent les unes des autres quand on les place dans de l'eau de mer privée de calcium (Herbst) (1).

Benecke (2) a observé une désagrégation analogue des filaments de spirogyres dans un milieu exempt de calcium.

Enfin dans un mémoire tout récent, Spaeth (3) émet cette opinion que les actions antagonistes entre les différents sels minéraux, de même que celles qui se manifestent entre certains alcaloïdes d'une part, et les sels minéraux d'autre part, proviendraient de ce que l'une des substances antagonistes favoriserait l'*imperméabilité* cellulaire (c'est-à-dire la cohésion des colloïdes superficiels de la cellule), tandis que l'autre substance favoriserait la *perméabilité* cellulaire (c'est-à-dire la solubilité de ces mêmes colloïdes). Nous reviendrons plus tard sur les idées de Spaeth.

(1) Herbst (loc. cit.).

(2) Benecke, Jahrbuch f. wissenschaftl. Botan. 32, 474; 1898.

(3) Spaeth, Science, 7 mai 1916.

Overton se demande si la disparition de l'excitabilité musculaire indirecte (Locke) et de l'excitabilité réflexe (Overton) provenant de l'absence de Ca dans le système nerveux central, ne pourraient pas s'expliquer en admettant que ces troubles fonctionnels soient la conséquence d'un relâchement de synapses entre divers éléments physiologiques.

Potassium et magnésium. — De nombreuses observations ont montré que ces deux sels ne sont pas interchangeable. Höber fait remarquer que le magnésium ne semble pas, par son action, se placer près du calcium, comme on aurait pu s'y attendre. Le magnésium s'est même parfois montré antagoniste du calcium ; d'autres fois le premier de ces sels semble avoir exercé une action toute spéciale. Cela tient peut-être en partie à ce que le magnésium occupe une place intermédiaire entre les métaux alcalins et les métaux alcalino-terreux, en partie aussi à ses propriétés spéciales de dissociation. On sait, par exemple, que le sulfate de magnésie en solution exerce une pression remarquablement faible, presque comme si ce sel était un non électrolyte ; et cependant des mesures précises permettent d'affirmer que ses molécules doivent être dissociées en partie. Cela tient probablement, dit Höber, à ce qu'il existe d'une part des doubles molécules dans la solution, et à ce que d'autre part, la dissociation de ces doubles molécules n'est pas complète, de sorte qu'il se forme des ions complexes répondant aux formules Mg.MgSO^{++} et $\text{MgSO}^+\text{SO}^+ \dots$. Dans tous les cas, les sels de magnésium se différencient des sels alcalins et alcalino-terreux par des phénomènes de dissociation tout à fait spéciaux ; et c'est ce qui explique que l'action de leur solution occupe une place à part parmi les solutions salines.

Hypothèses émises sur la perméabilité cellulaire et fondées sur l'action antagoniste des sels minéraux (Osterhout, Spaeth, Clowes). — Ces auteurs s'intéressent moins à la structure histologique de la couche superficielle des cellules qu'à sa constitution physico-chimique. Ce qui caractérise leur manière de voir, c'est que, l'état physico-chimique de la couche superficielle étant essentiellement modifiable sous l'influence des substances dissoutes dans le milieu ambiant (et

en particulier des sels minéraux), la perméabilité elle-même devient une propriété essentiellement muable. On peut ajouter que les auteurs de ces théories s'appuient tous sur l'effet antagoniste de certains sels minéraux dans les expériences qu'ils ont faites.

HYPOTHÈSE D'OSTERHOUT (1). — J. Lœb et d'autres physiologistes, dit-il, ont essayé d'expliquer l'action antagoniste exercée par diverses substances sur le protoplasma vivant, mais aucun d'eux n'a poussé son explication assez loin pour nous permettre de prédire une action antagoniste des unes sur les autres, et le degré d'antagonisme qu'elles exercent. Cette prédiction peut être rendue possible grâce à l'hypothèse émise par Osterhout sur la perméabilité du protoplasma.

D'après cet auteur (2), les substances qui modifient la perméabilité du protoplasma se divisent en deux classes :

1° celles qui augmentent la perméabilité ;

2° celles qui la diminuent.

Les substances qui appartiennent à la première catégorie sont antagonistes des substances appartenant à la seconde, et vice versa. Pour prédire l'action antagoniste entre deux substances sur une cellule, il suffit de déterminer à quel groupe elle appartient, et plus l'action d'une substance sur la perméabilité cellulaire est grande, plus son action antagoniste sera marquée.

Cette relation peut d'ailleurs être masquée par des phénomènes secondaires. Ainsi les substances qui causent une diminution de perméabilité peuvent, *si leur action est suffisamment longue*, produire une augmentation de perméabilité.

Expériences sur les laminaires. — Osterhout invoque des expériences faites sur la perméabilité de laminaires (*laminaria saccharia*), perméabilité contrôlée par leur résistance électrique (3).

D'après Osterhout, NaCl appartient aux substances du premier groupe, et augmenterait la perméabilité cellulaire, tandis que CaCl_2 appartient aux substances du second grou-

(1) Osterhout. « On the nature of antagonisme ». Science 2 fév. 1915.

(2) Osterhout, loc. cit.

(3) Osterhout. Science 35, 112. 1912.

pe et diminuerait la perméabilité cellulaire. Or, l'antagonisme de ces deux sels sur *laminaria saccharia* confirmerait d'après Osterhout l'hypothèse émise plus haut.

Expériences sur l'action du magnésium. — Notre auteur s'intéressa spécialement à l'action du magnésium, parce que selon certains physiologistes, ce sel ne s'était pas révélé comme antagoniste du sodium, alors que, par sa parenté chimique avec le calcium, on devait s'attendre à ce que le magnésium agit dans le même sens que ce dernier.

Osterhout constata que le magnésium diminue la perméabilité bien que son effet soit moins marqué que celui du calcium ; il agit sur *laminaria* comme antagoniste de NaCl . L'acide chlorhydrique diminue la perméabilité du protoplasma, il était donc à supposer que l'on rencontrerait un antagonisme entre HCl et NaCl ce que confirma l'expérience.

Enfin, Osterhout fit encore porter ses recherches sur d'autres sels, et constata que les sels de Lanthane $\text{La}^2 (\text{Azo}^3)^6$ et de Césium $[\text{Ce}^2 (\text{Azo}^3)]^6$ diminuent la perméabilité plus que les sels de Ca . Il fut constaté que le degré d'antagonisme exercé par ces sels était proportionnel à leur action restrictive sur la perméabilité cellulaire.

HYPOTHÈSE DE SPAETH. — En avril 1916 Spaeth (loc. cit.) publia un intéressant article que nous allons analyser.

La principale objection à faire à la théorie d'Overton, fait observer Spaeth, c'est que sa théorie, qui explique l'entrée dans la cellule de substances inutiles à sa vie, reste muette sur la pénétration des sucres, des sels minéraux, et des acides aminés qui jouent un rôle prépondérant dans la nutrition cellulaire.

J. Lœb (1) avait déjà, depuis longtemps, insisté sur l'importance de l'état d'agrégation des colloïdes à la surface de la cellule du point de vue de la perméabilité de cette dernière. Höber, Lillie et un grand nombre d'autres auteurs établirent sans conteste les relations existant entre l'état physico-chimique (état d'agrégation) des colloïdes cellulaires d'une part et la perméabilité cellulaire d'autre part. Mais ces relations n'ont jamais été précisées. C'est ce qu'a tenté

(1) J. Lœb. Pfl. Arch. 88 1901. — Americ. journ. of physiol. 6, 411 ; 1902.

Spaeth en s'efforçant d'analyser les facteurs qui déterminent la viscosité à la surface des cellules en même temps que l'influence de ces facteurs,

1° sur la perméabilité cellulaire,

et 2° sur les actions antagonistes de certaines substances.

Spaeth pense que les échanges, à la surface des cellules, sont sous la dépendance de variations qui se produisent dans l'état de solution des substances qui constituent les couches les plus superficielles de la cellule. Ce seraient les modifications apportées à cet état de solution [état que Spaeth appelle « *équilibre de solution à la surface cellulaire* »](1), qui conditionneraient les échanges entre la cellule et son milieu ; et comme les échanges qui ont lieu à la surface cellulaire conditionnent à leur tour la vie de la cellule, Spaeth donne à cet « *équilibre de solution* » le nom « *d'équilibre vital* ».

Supposons maintenant une série de systèmes à deux phases, c'est-à-dire une série de liquides contenant une substance *en suspension*. Supposons en outre que le premier terme de cette série soit constitué par un liquide contenant en suspension des particules grossières, et que les autres liquides contiennent en suspension des particules de plus en plus fines revêtant respectivement la forme d'une *SUSPENSION colloïdale*, d'une *SOLUTION colloïdale*, de *colloïdes hydrophiles*, d'un système « *à dispersion moléculaire* » d'Oswald, et enfin d'une solution ionisée d'électrolytes telle qu'une solution de NaCl. Nous observerons alors les deux faits particulièrement frappants que voici :

1° une division de plus en plus grande de la phase solide, dispersée ;

et 2° une intimité croissante entre la phase dispersée et le solvant, intimité qui est la conséquence nécessaire de l'énorme accroissement de surface du corps en solution (2). Nous constatons ensuite que, pour chaque solution examinée, il existe toujours un état d'*équilibre* entre le solvant et le corps en solution. Les forces qui se trouvent, ici, en présence sont, d'une part, la force de cohésion tendant à l'agrégation des

(1) « Surface — Solution equilibrium ».

(2) R. Höber. Physik. Chemie der Zelle, etc., p. 305.

particules dissoutes, et d'autre part, la force de dispersion tendant à leur désagrégation. On peut donc parler d'un « *équilibre d'agrégation* ». Cet équilibre est modifié par l'addition de n'importe quelle substance, organique ou inorganique, par la chaleur des rayons ultra-violets, etc.

Si par exemple, on ajoute du CaCl^2 à une suspension colloïdale négative de As_2S_3 , il se produit une précipitation, c'est-à-dire un accroissement dans l'état d'agrégation de la phase solide. D'autre part, de faibles quantités de CaCl^2 (0,1 N) *éclaircissent* une solution colloïdale opaque de blanc d'œuf : il s'agit, dans ce dernier cas, d'un accroissement dans la dispersion du corps solide, et l'apparence du système en question se rapproche de celle d'une solution vraie. Dans toute la série de systèmes diphasiques que nous avons supposé, les limites extrêmes sont l'insolubilité absolue d'une part et la solubilité complète d'autre part. Tout changement ayant pour conséquence un accroissement de dispersion signifie un changement vers l'état de *solution vraie*. Il n'existe pas de limite nettement tranchée entre les solutions vraies et les solutions colloïdales.

Ainsi une solution de sucre de canne, bien qu'elle soit un système à dispersion moléculaire, représente un degré de dispersion moindre que n'importe quelle solution d'électrolyte. D'autre part, quand on mélange deux solutions salines ayant un ion commun, on constate un phénomène d'association ou de diminution de dispersion ; ce fait bien connu constitue une modification de l'équilibre de solution vers un accroissement d'agrégation, et dans le cas envisagé, la dispersion *ionique* décroît vers une dispersion *moléculaire*.

Or, les colloïdes hydrophiles (qui intéressent le physiologiste d'une façon toute spéciale) sont particulièrement exposés à voir se produire de légères variations dans la concentration des ions H qui entrent dans leur constitution. Ici, la réversibilité des changements survenant dans l'état d'agrégation des colloïdes hydrophiles s'étend beaucoup plus loin que lorsqu'il s'agit des changements qui se produisent sur les colloïdes moins élevés en organisation. Il s'ensuit que dans les limites de la réversibilité affectant l'équilibre de solution des colloïdes hydrophiles sont compris des états d'agrégation réversibles en nombre beaucoup plus grand

que n'est le nombre des états d'agrégation réversibles chez les colloïdes inférieurs.

La viscosité ou, au contraire, la fluidité des colloïdes varie avec le degré de dispersion des particules solides. Quand la dispersion est maxima, c'est-à-dire quand on se trouve en présence d'une *solution vraie*, la fluidité elle-même est maxima. Un accroissement de cohésion (agrégation) est donc le corollaire d'une diminution de fluidité ; mais cette diminution de fluidité ne continue que jusqu'au moment où le corps *en solution* commence à se séparer du milieu solvant pour passer à l'état de *suspension*. Quand ce point est atteint, la fluidité est soudainement réversée et se rapproche de plus en plus de la fluidité du liquide *pur* servant de milieu solvant.

Que la précipitation de la phase solide (corps en solution) soit produite par l'action d'électrolytes, ou par celle de la température (coagulation par la chaleur), l'effet physique sur la fluidité est le même.

Comme toutes les substances exercent d'une façon ou d'une autre une influence sur l'équilibre de solution d'un système colloïdal, nous pouvons théoriquement diviser les différentes substances en deux groupes : l'un comprenant celles qui favorisent la solubilité, accroissent la dispersion et la fluidité ; et le second groupe, comprenant les substances qui favorisent l'insolubilité, l'agrégation, la précipitation, la coagulation, la viscosité initiale (1).

Si maintenant nous étudions les conditions dans lesquelles se trouvent spécialement les colloïdes au niveau de la surface des cellules, nous voyons que dans certains cas, il existe des membranes nettement différenciées. Pour beaucoup de cellules animales, ces membranes ne sont pas démontrables, mais pour la discussion qui nous occupe cela n'a que peu d'importance. Ce qui nous occupe est la *limite colloïdale qui doit exister à la surface de toute cellule* (2).

Lorsqu'on opère sur des cellules isolées, comme par exemple des cellules ovulaires, on observe que les variations ap-

(1) C'est nous qui soulignons. — Nous allons voir par ce qui va suivre que Spaeth oppose l'action liquéfiant des sels de K et Na à l'action coagulante (du moins au début) des sels de Ca.

(2) C'est encore nous qui soulignons.

portées dans la constitution du milieu ambiant entraînent des modifications profondes à l'intérieur de la cellule. Or, ces modifications, quelles qu'elles soient peuvent être considérées comme un processus consécutif à un processus initial au niveau de la *surface cellulaire*.

Les substances liquéfiantes sont considérées comme augmentant la perméabilité cellulaire (1). Par exemple, des œufs d'*Arbacia* traités par des solutions de thiocyanate de *Na* ou de *K* commencent à perdre leur pigment au bout de deux ou trois minutes. Ceci doit être considéré comme l'expression d'un accroissement de la perméabilité normale à la surface des cellules.

De nombreuses expériences (2) ont montré que *l'action toxique liquéfiante des sels neutres alcalins décroissaient quand leurs anions allaient de ScN vers Cl en suivant l'ordre de la série d'Hofmeister*. Dans ces expériences, quand les solutions salines arrivaient au contact avec la surface cellulaire, *il se produisait une augmentation du degré de dispersion des colloïdes superficiels*. C'est dans les solutions de SCN que la dispersion était la plus accentuée, et dans les solutions de Cl qu'elle l'était le moins. *L'accroissement de dispersion a son expression physico-chimique dans un accroissement de fluidité à la surface cellulaire*. Et, comme la vitesse de diffusion des ions et des molécules à travers n'importe quel milieu liquide dépend de la viscosité de ce milieu, il est clair que l'augmentation de fluidité à la surface de la cellule implique une plus grande facilité de la diffusion des substances solubles dans les deux sens.

Puisqu'il y a une corrélation nettement établie entre la liquéfaction (dispersion) et l'augmentation de perméabilité, nous devons avoir, dans les conditions *normales*, une aggrégation plus marquée des colloïdes superficiels que pendant la liquéfaction. Si nous nous rappelons que des solutions pures de n'importe quelle substance affectent *l'équilibre et solution* des colloïdes d'une façon ou d'une autre, nous devons nous attendre *a priori* à rencontrer certains agents

(1) Lillie. Journal of morphology 22, 695.

(2) Schwartz. Pfl. Arch. 117, 161.

Lillie. Amer. Journal of physiol. 26, 106, 1916.

Spaeth. Journ. of Experim. Zool. 15, 127.

capables d'augmenter l'état d'agrégation des colloïdes superficiels. Il doit donc y avoir des solutions vraies d'électrolytes ou de non électrolytes qui, mises en rapport avec la surface cellulaire, diminuent le degré de dispersion des colloïdes superficiels. Toutefois, ce processus ne saurait être considéré comme étant simplement l'opposé de la liquéfaction. En effet, un léger accroissement d'agrégation des colloïdes superficiels impliquerait une augmentation de viscosité à la surface cellulaire, et s'il existait préalablement un équilibre de solubilité, il s'en suivrait que la vitesse de diffusion des ions et des molécules à travers la surface cellulaire se trouverait réduite. Ainsi que nous l'avons dit plus haut, la vitesse de diffusion d'une substance quelconque à travers la surface cellulaire mesure le degré de perméabilité de la cellule à cette substance. Par conséquent, nous pouvons dire qu'avec un accroissement de viscosité à la surface, la perméabilité cellulaire doit décroître ; et l'addition d'une plus grande quantité de la substance qui augmente l'état d'agrégation devrait produire une augmentation de viscosité à la surface. Mais nous avons vu plus haut que la viscosité à la surface cellulaire était nettement limitée par l'état d'agrégation de la phase solide dispersée, et que dès que la substance dissoute commence à se précipiter, à se séparer du solvant, la viscosité décroît brusquement, — et ce qui revient au même, — la fluidité à la surface cellulaire augmente brusquement. Le soudain accroissement de fluidité doit impliquer une suppression immédiate de la barrière qui faisait obstacle à la diffusion des ions et des molécules, qui alors, passent plus rapidement à travers la surface cellulaire (1).

D'après les considérations qui précèdent, il semble que la perméabilité de la cellule peut être augmentée de deux façons : a) ou bien par une substance liquéfiant comme le thiocyanate qui accroît la solubilité (degré de dispersion) des colloïdes superficiels.

b) ou bien par une solution contenant un excès d'une substance précipitante comme CaCl (2) qui, en augmentant

(1) W. Oswald. Grundniss der Kolloïd chemie, 2^e Ed. 307.

(2) Si on compare cette phrase avec ce qui a été dit page 16 au sujet du K et du Na, on voit que dans l'esprit de Spaeth le Ca est bien antagoniste des deux premiers sels.

l'état d'agrégation des colloïdes jusqu'à la précipitation de ces derniers hors du milieu solvant, amènent à la surface cellulaire une soudaine fluidité qui approche de celle du solvant pur.

Normalement, les influences qui s'exercent à la surface limitante de la cellule doivent avoir un effet « cohésif » considérable puisqu'à l'état physiologique les pigments ou autres constituants cellulaires ne diffusent pas au dehors. D'autre part Osterhout a montré que certains électrolytes augmentent la résistance électrique des cellules de laminaïres, ce qui implique une diminution de perméabilité. Ces électrolytes sont : $MgCl^2$, $CaCl^2$, HCl , La^2 (AzO^2)¹. Ils ont tous (1), à de certaines concentrations, un effet coagulant ou deshydratant particulier sur une variété de colloïdes. L'action de $CaCl^2$ est particulièrement intéressante puisqu'au début il augmente la résistance, alors qu'au bout d'un certain temps, la résistance diminue pour tomber à la fin au-dessous de sa valeur initiale. C'est précisément ce à quoi nous devons nous attendre si nous admettons que $CaCl^2$ agit sur la viscosité des colloïdes superficiels. La corrélation théorique entre l'accroissement de la dispersion et de la perméabilité d'une part, — entre l'accroissement de cohésion et la diminution de perméabilité (au début) d'autre part, — se trouve ainsi s'appuyer sur l'expérience.

On sait que la cellule est normalement perméable à des substances lipo-solubles qui ne font pas partie du métabolisme normal des tissus, tandis qu'elle n'est pas perméable au sucre, aux sels (2), aux acides animés qui entrent en grandes proportions dans les matériaux nutritifs de la cellule. Or, comme ces substances existent à l'intérieur des cellules, il faut bien admettre qu'elles aient pu passer à un moment donné, ce qui implique que la perméabilité a dû être augmentée à ce moment-là. De plus, le contenu cellulaire n'est pas invariable, et nous devons pouvoir donner l'explication d'un mécanisme permettant les échanges métaboliques : un tel mécanisme implique un équilibre de solution capable de favoriser des variations de perméabilité, de l'augmenter ou

(1) Mines, *journal of physiology* 40, 327 ; 42, 309. — R. Höber et Spaeth. *Pfl. Arch.* 159, 433.

(2) Ce sont les idées de Spaeth que nous traduisons.

de la diminuer, ces deux processus devant être réversibles dans de certaines limites.

En résumé il existe un équilibre de solution des colloïdes superficiels susceptible d'être modifié de deux façons différentes :

1° *par une substance liquéfiant*e dont l'action est d'abord d'augmenter la perméabilité, et qui peut produire la liquéfaction totale et la mort si l'action se continue au delà de certaines limites ;

2° *par une substance cohésive* : il se produit d'abord une diminution de perméabilité ; mais, si cette action continue, il y a précipitation de la phase en solution, en même temps que mort de la cellule et augmentation soudaine de la perméabilité.

Le degré de cohésion de la phase solide à la surface cellulaire dépend directement de sa solubilité dans le milieu solvant. Cette solubilité est déterminée :

1° par la concentration, la nature, et le nombre d'électrolytes ou de substances organiques dissoutes dans le milieu solvant ;

2° par la température du système en question. Nous pouvons donc dire :

A. — qu'à la surface de chaque cellule, il y a un équilibre de solution, *un équilibre vital* entre la phase dispersée et le milieu solvant.

B. — Que la perméabilité de la cellule est déterminée par la constance ou les variations de l'équilibre vital ; et Spæth résume alors ce qui a été dit plus haut de la façon suivante :

1° Dans le système colloïdal qui constitue la limite extérieure de toute cellule (que ce système colloïdal soit différencié sous forme de membrane ou non) il existe un équilibre entre sa phase dispersée et son milieu solvant.

2° Une variation de cet équilibre dans le sens d'une plus grande dispersion des particules dissoutes, produit une augmentation de perméabilité ayant pour corollaire une augmentation de fluidité et une diffusion plus rapide de certaines substances à travers la membrane et dans les deux sens.

3° Une variation *légère* de cet équilibre dans le sens d'une augmentation de cohésion implique une action solidifiante à la surface, une augmentation de viscosité, une diffusion plus lente à travers la membrane, par conséquent une diminution de perméabilité.

4° Une variation considérable de l'équilibre de solution dans le sens d'une plus grande cohésion (insolubilité des colloïdes superficiels, précipitation de ces derniers) implique une diminution dans le degré d'intimité entre la phase en suspension et le milieu solvant. La fluidité est soudainement accrue, et la diffusion à travers la surface cellulaire en est proportionnellement facilitée.

5° La condition critique de n'importe quelle surface cellulaire d'où dépend la continuation de la vie cellulaire est l'état d'agrégation de ses colloïdes superficiels, c'est-à-dire le rapport entre la phase en solution et le milieu solvant.

Nous pouvons donc parler d'un équilibre de solution à toute surface cellulaire, équilibre dont les variations sont réversibles dans de certaines limites. Lorsque ces limites sont dépassées, il y a mort de la cellule soit par liquéfaction de la couche limitante de la cellule, soit par coagulation des colloïdes de cette même couche.

Dans toute combinaison d'électrolytes, il est clair que s'il était possible de compenser exactement l'effet de dispersion d'un constituant ou d'un groupe de constituants par l'effet cohésif de l'autre, l'équilibre de solution des colloïdes superficiels restait inchangé ; ou, en termes physiologiques, si nous pouvions compenser les forces coagulantes et liquéfiantes les uns par les autres, au niveau de la surface cellulaire, l'équilibre vital resterait normal, et nous n'obtiendrions aucun effet nuisible. Des effets compensateurs de cette sorte sont réalisés actuellement dans les liquides de Ringer et Locke ou dans l'eau de mer. Nous avons, ici, un certain nombre de facteurs qui, s'ils agissaient à l'état isolé, produiraient des actions coagulantes ou liquéfiantes sur les cellules, mais qui, combiné les uns avec les autres, sont relativement inoffensifs. D'après la conception d'un équilibre vital à la surface cellulaire, l'inocuité des solutions compensées de deux ou plusieurs constituants doit être attribuée à ce que ces solutions ne peuvent ni augmenter ni diminuer l'état de

solution de la phase dissoute des colloïdes. Les phénomènes de compensation de ce genre ont reçu le nom collectif d'*antagonismes*.

Un « *antagonisme* » peut être considéré comme la compensation physiologique d'une force favorisant la dispersion (état de solution) par une seconde force favorisant l'aggrégation des particules situées dans les couches superficielles des cellules.

(D'après R.-A. Spaeth).

Si ingénieuse que soit la théorie de Spaeth, elle n'échappa cependant pas à la critique. Dans un article paru le 16 juin 1916 (1) Osterhout fit les remarques suivantes au sujet de la théorie en question.

« Il y a quelques années, une conception analogue me fut suggérée par le fait que les tissus de *laminaria* immergés dans NaCl deviennent beaucoup plus mous, alors qu'ils durcissent dans CaCl_2 . Les modifications qui se produisent dans la viscosité de ces tissus sont assez notables pour expliquer la chute de résistance électrique qu'ils présentent après leur immersion dans NaCl , et l'augmentation de résistance (toujours suivie d'une chute de résistance électrique) après leur immersion dans CaCl_2 .

« Dans l'espoir de jeter quelque lumière sur ces processus, des coupes de *laminaria* immergés dans CaCl_2 furent examinées au microscope. On constata, qu'après un certain temps d'immersion, le protoplasma était coagulé. Il semble évident que le processus qui augmentait la viscosité pouvait produire une *précipitation* du protoplasma ou quelqu'autre modification de structure par suite de laquelle ce dernier deviendrait plus perméable.

« D'après cette conception, l'auteur s'attendait à constater une chute de résistance électrique sur les tissus immergés dans NaCl (comme corollaire d'une diminution de viscosité), tandis que sur les tissus immergés dans CaCl_2 , on devait s'attendre à une augmentation de résistance (due à l'augmentation de viscosité) suivie d'une chute de résistance due à la *coagulation* ou à un autre changement dans la structure du protoplasma.

« Mais on s'aperçoit rapidement que de sérieuses objections s'élèvent contre cette manière de voir. Voici les principales d'entre ces objections.

1° Si à une solution de NaCl , on ajoute du CaCl_2 de façon à ce que l'augmentation de viscosité produite par le premier sel soit exactement balancée par la diminution de viscosité produite par le second,

(1) W. J. Osterhout. Perméability and Viscosity. Science, 16 juin 1916.

la résistance électrique devrait rester stationnaire. Mais ce n'est pas ce qui se produit bien qu'il paraisse en être ainsi quand les observations se sont répétées assez fréquemment (ainsi que ce fut le cas dans quelques expériences antérieures) : il se produit toujours une chute de résistance, ou bien une augmentation de résistance suivie d'une chute de résistance.

« 2° Quand on augmente la quantité de CaCl^2 ajoutée au mélange ci-dessus, on devrait s'attendre à une augmentation de résistance ; et cette dernière devrait rester stationnaire en supposant que la quantité de CaCl^2 ne fût pas suffisante pour produire la précipitation ou tout autre changement de structure du protoplasma capable de diminuer la résistance électrique. Mais cela ne se produit pas. Jamais les tissus ne conservent l'accroissement *initial* de résistance, mais ils présentent toujours une chute de résistance qui se manifeste peu après que cette dernière a atteint son maximum.

« 3° Si on augmente encore la quantité de CaCl^2 de façon à provoquer la coagulation ou tout autre changement de structure diminuant la résistance, nous devrions nous attendre à trouver dans tous les cas le même degré de viscosité (et par conséquent le même maximum de résistance juste avant le début de la chute). Et, de plus, une quantité plus grande de CaCl^2 devrait hâter ce processus sans changer le maximum de viscosité. Or ces faits ne correspondent pas à ces prévisions : le maximum de résistance électrique augmenté avec la proportion de CaCl^2 de sorte que le maximum le plus élevé correspond à l'action d'une solution pure de CaCl^2 .

« 4° Si la chute de résistance dans CaCl^2 est due à la précipitation ou à quelqu'autre changement de structure, on devrait s'attendre à ce que ce phénomène fût irréversible *presque dès le début* de sa manifestation. Mais ce n'est pas le cas. Ce n'est que lorsqu'il a évolué depuis longtemps vers le moment où se produira la mort du tissu que le processus devient irréversible. D'autre part, la chute de résistance électrique dans NaCl (due à la liquéfaction) semblerait devoir être réversible à n'importe quel moment. Mais ce phénomène cesse d'être complètement réversible dès qu'il a atteint le sixième (ou même moins) de son évolution vers la mort du tissu.

« 5° l'action des anions sur la perméabilité de *Laminaria* est tout à fait en désaccord avec leur action sur la viscosité des colloïdes telle que cette action est représentée par la série d'Hofmeister.

« 6° Puisque les modifications de la viscosité se produisent aussi bien dans les tissus morts que dans les tissus vivants, nous devrions nous attendre à observer dans les deux cas, les mêmes modifications dans la résistance électrique : On constate, au contraire, que la diminution de viscosité due à l'action de NaCl ne produit pas d'effets appréciables sur la résistance électrique. Et même, quand l'action de NaCl est poussée assez loin pour réduire les tissus à une gelée tout à fait molle, on ne constate qu'une légère différence dans la résistance électrique.

« Dans CaCl_2 , le durcissement des tissus s'accompagne d'un léger accroissement de résistance, mais cet accroissement est beaucoup trop faible pour pouvoir entrer en ligne de compte.

« On pourrait supposer que si la résistance électrique des tissus morts ne présente pas de grandes variations, celle tient à ce que l'induration et le ramollissement de ces tissus ne sont pas aussi marqués que dans les plantes vivantes, mais ce n'est pas le cas.

« Enfin, on constate que l'augmentation de viscosité s'accompagne d'absorptions d'eau, tandis que la diminution de viscosité est accompagnée de perte d'eau et ceci se produit aussi bien sur les tissus vivants que sur les tissus morts.

« Il semble que ces objections et d'autres encore doivent être réfutées avant que l'on puisse admettre que les variations dans la perméabilité cellulaire soient conditionnées par des variations de viscosité. »

HYPOTHÈSE DE CLOWES. — *Actions antagonistes de certains électrolytes sur les systèmes physiques et biologiques.* — Clowes étudie les actions antagonistes des électrolytes sur les systèmes physiques et biologiques.

Malgré les nombreuses recherches de J. Lœb sur l'antagonisme des sels minéraux, il n'existe pas d'explication physique universellement acceptée des effets antagonistes et compensateurs des électrolytes sur les systèmes biologiques.

Des travaux antérieurs, dit Clowes, avaient amené leurs auteurs à conclure que les électrolytes peuvent être divisés en deux classes, selon que, comme avec CaCl_2 , c'est leur *cation* qui est plus rapidement absorbé ou actif, ou bien selon que, comme avec NaOH ou NaCl , c'est l'*anion* qui est plus rapidement absorbé ou actif. Les substances appartenant à la première catégorie semblent *diminuer la perméabilité de la membrane à l'eau, tandis que ceux de la seconde catégorie semblent augmenter la perméabilité de la membrane* (1).

Ainsi que nous le verrons plus loin, les proportions dans lesquelles les électrolytes antagonistes se contrebalancent dans les systèmes biologiques correspondent si étroitement aux proportions dans lesquelles ils se contrebalancent dans les systèmes physiques, qu'il est bien probable que des solutions salines « balancées » telles que l'eau de mer ou le sang des mammifères sont celles dans lesquelles les propor-

(1) Nous voyons par ces mots et par ce qui va suivre que Clowes admet l'existence d'une membrane cellulaire.

tions de cations et d'anions absorbés ou actifs sur la membrane protoplasmique sont égales ou compensées de façon à ce que l'équilibre colloïdal et, par conséquent, la perméabilité de la membrane restent inchangés.

Clowes rappelle les expériences d'Osterhout sur les laminaires. Dans des conditions identiques, fait observer le premier de ces auteurs, Osterhout nota que les tissus exposés à l'eau de mer offraient une résistance électrique constante ; mais après avoir été exposés à des solutions de NaCl , Osterhout constata une diminution de résistance, tandis que l'immersion préalable des tissus dans CaCl^2 augmentait la résistance électrique au moins par une courte période de temps.

Or, dans un liquide composé de 100 molécules de NaCl et d'une ou deux molécules de CaCl^2 , il n'y avait pas de variation appréciable dans la résistance électrique des tissus immergés. Clowes fait observer qu'Osterhout conclut de ses expériences que les électrolytes se divisent en deux groupes : ceux qui augmentent la perméabilité de la membrane et ceux qui la diminuent (1).

Les proportions de 100 molécules de NaCl + 1 ou 2 molécules de CaCl^2 sont particulièrement intéressantes en biologie, dit Clowes ; car c'est dans ces proportions là que ces sels sont mélangés dans l'eau de mer, le sang des mammifères et dans d'autres milieux salins capables d'entretenir la vie. De plus, les organismes marins sont tués dans des solutions de NaCl ou de CaCl^2 isosmotiques à l'eau de mer, alors qu'ils vivent dans des solutions contenant du NaCl et du CaCl^2 dans les proportions indiquées plus haut.

D'autre part Bancroft avait observé que les savons de Na employés comme émulsionnants pour l'eau et l'huile donnent une émulsion consistant en gouttes d'huile dispersées dans de l'eau (analogue à la crème) tandis que les savons de calcium donnent des émulsions consistant en gouttes d'eau dispersées dans l'huile (analogue à du beurre). Clowes, s'appuyant sur ces observations, continua à étudier l'influence des électrolytes sur les émulsions, pensant que cette étude pourrait jeter quelque lumière sur certains phéno-

(1) Voyez pages 191 et suivantes.

mènes physiologiques comme la coagulation du sang ou celle de la caséine. Dans ces processus de coagulation où une protéine dispersée dans l'eau se transforme en un caillot dans lequel l'eau est plus ou moins dispersée dans une phase de protéine, cette transformation est favorisée par le calcium et retardée par des sels de Na ou les alcalis. La première question que se posa Clowes fut de savoir si une transformation analogue pouvait être provoquée sur des émulsions. Or, cet auteur constata que certaines émulsions d'huile dans l'eau pouvaient être transformées en émulsions d'eau dans l'huile quand on secouait les premières avec du calcium, et que cette transformation pouvait être évitée ou même qu'une transformation inverse pouvait avoir lieu si on ajoutait au calcium une proportion appropriée de NaOH.

Clowes démontra ensuite que NaCl ou d'autres sels de Na exerçaient la même influence que NaOH, mais d'une façon beaucoup moins marquée. Or, la coagulation du sang et la transformation d'émulsions paraissent être des effets physiologiques analogues provoqués par les sels de calcium et inhibés par les alcalis et les sels de sodium. Dans les deux cas (coagulation du sang et transformation d'émulsions), un système à phase non aqueuse dispersée dans de l'eau est converti en un système dont la phase aqueuse (eau) est dispersée dans la phase non aqueuse, comme si des îles entourées d'eau étaient transformées en lacs entourés de terre. Il est évident qu'un système d'îles entourées d'eau est perméable à l'eau, tandis que des lacs entourés de terre ne sont pas perméables à l'eau. On peut d'ailleurs concevoir une série de systèmes intermédiaires répondant à différents degrés de perméabilité de la membrane.

Puisque le calcium exerce une action contraire à celle du sodium, on conçoit qu'en faisant varier les proportions de ces deux cations on fasse varier la perméabilité cellulaire.

Clowes suppose que le protoplasma cellulaire est analogue à un système de protéines, graisses, lipoides et autres colloïdes dispersés dans de l'eau (ce qui explique que l'eau et les substances qui y sont dissoutes pénètrent dans le protoplasma quand une fois, elles ont passé à travers la membrane cellulaire) ; et cet auteur assimile la membrane à une émulsion dont la phase aqueuse serait plus ou moins dis-

persée dans une phase continue de nature colloïdale, ce qui expliquerait :

1° l'imperméabilité de la membrane aux sucres, aux sels et aux autres substances solubles dans l'eau ;

2° la résistance au courant électrique ;

3° l'influence de la pression osmotique ;

4° le fait que des électrolytes sont contenus dans des proportions différentes en dedans et en dehors des cellules ;

et enfin, 5° la liberté avec laquelle les anesthésiques ou d'autres solvants de la graisse pénètrent dans le protoplasma.

Puisque les variations de perméabilité cellulaire sous l'influence du calcium et du sodium peuvent être attribués à une réversion des phases en présence, réversion semblable à celle que l'on observe dans une émulsion, Clowes s'est demandé si les électrolytes agissaient sur les systèmes physiques dans les mêmes proportions que sur les systèmes biologiques. Mais avant d'aborder cette question, l'auteur commente l'hypothèse de Bancroft sur l'antagonisme des savons de sodium et ceux de calcium.

Si on mélange de l'eau pure avec de l'huile, et que l'on secoue ce mélange, on n'obtient pas une véritable émulsion ; il faut ajouter des savons ou des substances analogues pour que l'émulsion se produise. L'agent émulsionnant exerce son action en se concentrant à la surface de séparation qui existe entre l'huile et l'eau et en formant une pellicule qui empêche l'agglomération subséquente des particules dispersées. Bancroft conclut que les savons de Na (qui sont dispersés librement dans l'eau et pas dans l'huile) forment une pellicule qui est plus facilement mouillée par l'eau que par l'huile, ayant par conséquent une tension superficielle moindre du côté de l'eau que du côté de l'huile ; et comme la surface interne d'une sphère est plus petite que sa surface externe, la pellicule aura une tendance à se fermer sur l'huile, réduisant ainsi au minimum la surface qui est le siège de la plus forte tension superficielle comparativement à la surface externe qui est le siège d'une faible tension superficielle.

Réciproquement, une pellicule composée d'un savon de Ca (dispersé dans l'huile) est mouillée davantage par l'huile

que par l'eau ; la tension superficielle la plus faible est donc du côté de l'huile, et la pellicule formée par le savon s'incurve en diminuant sa surface sur l'eau qu'elle emprisonne.

Ceci dit, Clowes constata que si des sels de Ca sont présents en même temps que des sels de Na et en proportions suffisantes pour se contrebalancer, ni l'un ni l'autre type d'émulsion ne prédomine, et l'huile et l'eau se placent en deux couches distinctes. Cette observation vient à l'appui de l'opinion de Bancroft. Puisque ces électrolytes exercent un effet exactement compensateur sur la pellicule, il n'y a pas de raison pour que celle-ci s'incurve d'un côté ou de l'autre ; et comme la pellicule reste rectiligne, elle n'a aucune tendance à emprisonner une phase plus que l'autre. Le mélange contient deux phases continues qui, étant liquides, obéissent à la pesanteur.

Les sels à cation bivalent et trivalent, et, dans certaines circonstances, des traces légères d'acide paraissent agir comme les traces de calcium, provoquant la formation d'une émulsion d'eau dans l'huile. Les alcalis, les sels à cation monovalent et à anion bi- et trivalent semblent agir d'une façon analogue à NaOH , provoquant des émulsions d'huile dans l'eau.

Clowes prépara des solutions aqueuses contenant soit de la soude soit des oléates de sodium, et les faisait pénétrer dans des solutions d'huile d'olive contenant une certaine quantité d'acide gras. Quand les solutions étaient à une concentration convenable, il se produisait, dès que la solution aqueuse sortait de la pipette et entraînait en contact avec l'huile environnante, des pellicules de savon à la surface de séparation entre l'huile et l'eau ; ces pellicules entouraient l'huile et formaient des gouttes dont le volume (en raison inverse de leur nombre) dépendait de la concentration de NaOH .

Une solution contenant $\frac{N}{1000}$ de NaOH formait de 40 à 45 gouttes, tandis qu'une solution de concentration égale à la moitié de la précédente formait de 20 à 25 gouttes ; enfin une solution deux fois plus concentrée que la première donnait 100 gouttes ou bien traversait l'huile sans donner de gouttes du tout.

L'addition de NaCl augmentait rapidement le nombre de gouttes. L'addition de CaCl diminuait le nombre de gouttes. Mais donnés ensemble, dans les proportions de 100 molécules de NaCl + 2 mol. de CaCl₂, ces deux sels exerçaient un effet compensateur et donnaient le même nombre de gouttes que quand la solution contenait seulement NaOH sans NaCl ni CaCl₂.

0,001 N NaOH :	44 gouttes
0,001 N NaOH	
+ 0,15 N NaCl :	300 »
0,001 N NaOH	
+ 0,0015 CaCl ₂ :	24 »
0,001 N NaOH	
+ 0,15 N NaCl	
+ 0,0015 N CaCl ₂ :	44 »

Cet antagonisme entre CaCl₂ et NaCl n'est pas dû, selon Clowes, à un antagonisme entre Ca et Na. Cet auteur insiste sur ce fait, que les effets antagonistes sont toujours attribuables à l'adsorption et à la réaction des cations d'une part, et des anions d'autre part. Ce qui arrive est simplement ceci : c'est que dans le cas de CaCl₂, le cation Ca est beaucoup plus vivement adsorbé que l'anion Cl, tandis que dans le cas de NaCl, l'anion Cl est plus vivement adsorbé que le cation Na. L'effet obtenu par chaque sel individuellement est une résultante de l'adsorption respective de son anion et de son cation ; et l'effet obtenu par un mélange de 2 ou plusieurs sels est la résultante des effets de l'adsorption respective de tous les cations et de tous les anions contenus dans ce mélange. C'est pourquoi, tandis que CaCl₂ exerce un effet semblable à celui d'un acide, effet dû à son cation dont l'adsorption est, ici, dominante, le NaCl agit comme un alcali parce que c'est son anion dont l'action est, dans ce cas, prédominante.

La remarquable concordance des proportions dans lesquelles NaCl et CaCl₂ s'équilibrent l'un l'autre dans ces systèmes purement physiques d'une part, et dans les systèmes biologiques d'autre part, ont incité Clowes à étudier les relations existant entre les divers électrolytes qui exercent des

effets antagonistes sur les systèmes biologiques. Par de nombreuses expériences qui seront publiées ultérieurement, Clowes a pu confirmer les résultats obtenus par Lœb, Osterhout et Lillie sur les cellules vivantes.

Les proportions dans lesquelles des substances à cation prédominant contrebalancent des substances à anion prédominant sont, dans la grande majorité des cas, les mêmes pour les systèmes purement physiques que pour les systèmes biologiques.

Les substances à cation prédominant qui diminuent la dispersion des pellicules dans l'eau, en rendant le système moins perméable à l'eau, sont appelées *protectrices* ; celles à anion prédominant qui augmentent la dispersion des pellicules dans l'eau, rendant le système plus perméable à l'eau, sont appelées *destructives*.

Des expériences faites par Clowes touchant l'action antagoniste du CaCl_2 et du citrate de soude sur la coagulation du sang, l'amènèrent à des résultats tout à fait comparables à ceux obtenus sur des systèmes purement physiques. Clowes en conclut que l'équilibre, dans ces deux sortes de systèmes, dépend du maintien de l'équilibre colloïdal des pellicules superficielles, et que des solutions en équilibre sont celles dans lesquelles les proportions d'anions et de cations absorbés ou réagissant sur les constituants colloïdaux des pellicules, se compensent. Il résulte de là qu'il ne se produit aucun changement dans l'équilibre du système envisagé.

« Ces systèmes à gouttes, dit Clowes (p. 755), sont particulièrement sensibles aux modifications survenant dans leur état physique, ainsi qu'à de légères variations dans leur constitution chimique, comme par exemple, une augmentation ou une diminution dans les proportions d'acide gras présent dans l'huile d'olive employée. Cette sensibilité aux moindres influences sont particulièrement intéressantes parce qu'elles permettent d'expliquer les variations de perméabilité aux matières alimentaires qui se produisent dans les cellules à l'état de croissance. Ces variations de perméabilité sont conditionnées, non seulement par des modifications dans les proportions d'électrolytes et de produits métaboliques qui les entourent, mais aussi par de légères différences dans la quantité de lipase, par exemple, ou de n'importe

quelle substance capable de décomposer les graisses ou les lipoïdes. En fait, ces systèmes sont aussi délicats, ou même plus délicats que des cellules vivantes, et ils sont aussi difficiles à manier.

« Des données comparatives exactes ne peuvent être établies que par l'observance la plus scrupuleuse de toutes les précautions possibles pour s'assurer que l'on opère dans des conditions satisfaisantes, et en s'appuyant sur de très nombreuses expériences.

« Il est intéressant de noter que, dans une telle série d'expériences, la grande majorité d'entre elles se tiendront dans les limites moyennes, tandis que dans certaines expériences, ou en opérant sur certains organismes, on pourra rencontrer des anomalies extraordinaires. »

Clowes ne veut pas entrer dans des explications complètes sur le mécanisme du système à gouttes ; mais il attire l'attention sur ce fait, « que les forces qui amènent une augmentation du nombre de gouttes sont toujours comparables à celles qui provoquent une émulsion d'huile dans l'eau, tandis que celles qui exercent l'effet opposé, amenant une diminution dans le nombre des gouttes sont ceux qui provoquent une émulsion d'eau dans l'huile ou un système moins perméable à l'eau.

« Ceci est dû, vraisemblablement, à l'influence exercée par la réaction ou l'adsorption des anions ou des cations sur la dispersion relative des constituants des pellicules dans l'eau d'une part, et dans l'huile d'autre part, ce qui modifie la tension superficielle relative des deux côtés de la pellicule, et provoque la formation, suivant les circonstances, d'un système dans lequel la perméabilité à l'eau est augmentée ou diminuée.

« Pour arriver, maintenant, à la question de la structure du protoplasma, il est probable que non seulement des pellicules de savons, mais toutes les pellicules de concentration formées à la surface de séparation entre deux phases non miscibles peuvent être influencées d'une façon analogue par les substances absorbées. »

Clowes se propose d'étudier plus tard, l'influence de la charges électrique des ions. Dans l'article que nous analysons, il étudie seulement le rôle joué par les pellicules de certains savons dans un système donné.

Or, on sait que les graisses et les lipoïdes jouent un rôle important dans la constitution de membranes protoplasmiques. On sait également que des savons sont présents dans le protoplasma, et, puisque ces savons tendront à se concentrer, comme on l'a vu plus haut, à la surface de séparation des particules de substances grasses ou lipoïdes, on conçoit parfaitement que lorsque le protoplasma nu vient en contact avec un milieu extérieur capable d'entretenir la vie (comme l'eau de mer) les particules dispersées de substances grasses ou lipoïdes qui se trouvent immédiatement à la surface en contact avec l'eau de mer, soient aussitôt influencées par le calcium de l'eau de mer. »

Un système consistant en matières grasses ou lipoïdes dispersées dans l'eau par le moyen d'une pellicule de sayon pourrait être converti plus ou moins complètement en un type de système inverse, dans lequel l'eau serait dispersée par l'intermédiaire d'une pellicule de savon dans une phase extérieure grasse ou lipoïde. La perméabilité d'un tel système à l'eau, la proportion dans laquelle des canaux d'eau se creuseraient d'une face à l'autre d'une membrane de ce genre, pourraient bien dépendre de la proportion des électrolytes qui comme le CaCl_2 , tendent à rendre le système moins perméable, ou comme NaCl tendent à la rendre moins perméable.

Prenons comme exemple la conversion d'un système constitué par des particules de cire dispersées dans de l'eau, en un système dont la structure ressemblerait à celle d'une ruche d'abeille et dans lequel la phase aqueuse serait entourée par les alvéoles qui formeraient ainsi une paroi continue. On conçoit que n'importe quel agent capable de corroder ou de perforer les parois de la ruche provoquerait la continuité de la phase aqueuse précédemment dispersée, et que finalement, cet agent creuserait des canaux d'eau à travers les parois de la ruche. Des agents capables d'exercer l'effet contraire, c'est-à-dire capables de protéger les parois circulaires, contrebalanceraient évidemment l'action des agents corrodant les parois ; et il en résulterait que la perméabilité d'un tel système dépendrait en définitive des proportions dans lesquelles les agents antagonistes seraient présents dans le système.

Clowes croit que l'on pourrait avoir recours à une explication de ce genre pour comprendre la formation de la membrane protoplasmique ; et cet auteur croit que l'on pourrait faire entrer en ligne de compte l'antagonisme entre les électrolytes possédant un cation plus ou moins facilement adsorbable (qui tendent à produire un système moins perméable) et les électrolytes possédant un anion plus adsorbable que leur cation (qui tendent à exercer l'effet inverse)

« Comme les protéines présentes dans le protoplasma sont transformées sous l'influence du calcium en un système non réversible analogue à un caillot sanguin, ce cation pourrait bien former une sorte de charpente et conférer une certaine rigidité, élasticité, et continuité à la membrane. Les matières grasses ou lipoïdes qui produisent avec l'eau des émulsions rapidement réversibles quand elles sont soutenues par une charpente protéique, pourraient produire des systèmes suffisamment sensibles pour que des électrolytes antagonistes tels que NaCl et CaCl pussent facilement faire varier leur perméabilité à l'eau selon les proportions dans lesquelles ces électrolytes seraient présents. »

Clowes se propose de montrer plus tard que les produits (1) de métabolisme d'une part, qui agissent sur la tension superficielle des pellicules de savons, et les électrolytes d'autre part peuvent produire, quand les uns et les autres sont présents en quantités voulues, des variations rythmiques dans la perméabilité de la membrane. Ces variations rythmiques de perméabilité cellulaire permettraient l'absorption des matières nutritives et l'élimination des produits de désassimilation. On se trouverait en présence d'un fonctionnement analogue à celui d'un système à soupape d'une locomotive ou d'une autre machine. « Si nous songeons que l'efficacité d'un système mécanique de ce genre pourrait être entièrement annihilée par une diminution ou une augmentation trop sensible de la force agissant sur la soupape, il n'est pas difficile de comprendre comment des substances telles que CaCl en diminuant la perméabilité, et des substances telles que NaCl en augmentant la perméabilité de la membrane protoplasmique au delà des limites relativement étroites qui

(1) Comme Co^{2+} .

sont compatibles avec son fonctionnement vital, comment ces substances produisent finalement dans l'équilibre colloïdal une perturbation qui aboutit à ce que nous appelons la mort. Les variations des potentiels électriques qui affectent les surfaces interne et externe de la cellule; et les effets électriques exercés par les sels correspondent à cette manière de voir. »

(Clowes).

CHAPITRE V

Phénomènes d'imbibition observés sur les différents tissus

Action de l'eau sur le tissu musculaire

C'est sur le tissu musculaire que semblent avoir été faites les premières observations sur le rôle que jouent les sels minéraux dans le fonctionnement des tissus vivants ; et d'après les auteurs anglais et américains, (1) ce serait *Stephen Halles* qui, dans son ouvrage intitulé « *Hemostatics* », aurait, le premier, attiré l'attention sur l'importance de ces sels dans la physiologie du muscle.

Après avoir constaté qu'une injection d'eau pure dans les vaisseaux sanguins produisait des contractions musculaires suivies de rigidité aqueuse (*Wasserstarre*) des muscles, Halles remarqua que cette rigidité ne se produisait pas lorsqu'il remplaçait l'eau pure par une *solution diluée de salpêtre*. Cependant, fait observer Boruttau, Ridley, Vieusens, Le Cat, Barbier et d'autres encore avaient déjà noté qu'une injection d'eau dans les artères produisait le gonflement et la contraction des muscles irrigués par ces artères.

Des expériences sur ce sujet furent d'ailleurs reprises au XIX^e siècle par Weber, Kölliker et Wittisch.

Ce dernier montra dans un important mémoire (2) que les contractions observées à la suite d'injections d'eau distillée étaient bien consécutives à l'action de l'eau sur la substance musculaire elle-même et non pas sur le nerf. Il observa, en effet, l'apparition de ces contractions sur des muscles séparés de leur nerf, et sur des muscles curarisés ou traités par la

(1) In Boruttau, loc. cit.

(2) Wittich. *Experimenta quædam*. Königsberg. 1857.

brucine. En 1862, Carl Boruttau (le père) (1) confirma les recherches de Wittich.

Certains auteurs, cependant, contestèrent que l'eau pût être considérée comme un véritable *excitant physiologique* de la substance musculaire. Ainsi Fletcher (2) fait observer que d'après les expériences de Biedermann, (3) la rigidité aqueuse ne met pas obstacle au courant de démarcation qui préexistait, comme cela s'observe sur les muscles à l'état de rigidité cadavérique ou dans la rigidité produite par la chaleur. D'autre part, les propres expériences de Fletcher (4) lui ont montré que dans la rigidité aqueuse, on n'observe pas d'augmentation dans la production d'acide carbonique comme on l'observe dans la rigidité cadavérique ou dans la rigidité produite par la chaleur.

On sait également que la rigidité aqueuse constitue (du moins au début) un phénomène réversible ; et ce fait avait conduit Kölliker (5) à considérer les contractions musculaires produites par l'eau distillée plutôt comme un phénomène « *purement physique* comparable à l'enroulement de la queue des spermatozoïdes. » Mais telle n'est pas l'opinion de Boruttau (le fils) (6). Cet auteur s'appuyant sur les travaux de Wittich et sur ses propres recherches, attribue la plus grande valeur à ce fait que les contractions produites par l'eau distillée provoquent une *contraction secondaire* dans une cuisse de grenouille pourvue de son nerf et utilisée pour le contrôle de la contraction induite. Boruttau conclut que l'existence de ce *courant d'action* doit faire considérer les contractions musculaires comme authentiquement physiologiques.

Si nous avons insisté sur ces expériences qui peuvent paraître au premier abord étrangères à notre sujet, c'est, comme le fait observer Boruttau, qu'il est bien probable que la rigidité aqueuse et l'inexcitabilité qui en résulte sont liées

(1) Carl Boruttau. Dissertation. Königsberg. 1862.

(2) Fletcher, *Journal of Physiology*, T. XXX, p. 434. 1904.

(3) Biedermann. *Wiener Akad. Sitzungsberichte der Phys. « Electro physiologie »* 3. Abt. 1888. p. 305.

(4) Fletcher. *Journal of Physiology* T. XXIII, p. 85. 1888.

(5) Kölliker. *Verhandl. der Würzburger physikal. Medizin. Gesellsch.* p. 58. 1857.

(6) L'auteur du remarquable mémoire cité au début de ce chapitre (p. 6) et auquel nous empruntons cet historique.

à la précipitation des albuminoïdes, *précipitation elle-même consécutive à la soustraction de sels minéraux*. Comme nous le disions plus haut, ces phénomènes sont, en effet, réversibles quand on restitue des sels aux tissus. Pour les muscles comme pour les nerfs, toute modification dans la concentration des sels (comme celle qui se produit quand on injecte de l'eau distillée) est probablement excitante. C'est dans la diffusion plus ou moins rapide et dans les modifications apportées dans la concentration relative des différents ions qu'il faut sans doute chercher la clef des phénomènes dont nous venons de parler (1).

D'ailleurs, vers le milieu du siècle dernier, Köl liker avait commencé d'étudier l'influence directe de différents sels sur la conservation des tissus vivants. Il avait montré l'action particulièrement favorable exercée par une solution de NaCl à 6 p. 1.000 sur la conservation des nerfs : il avait donné à cette solution le nom de « *Solution salée physiologique* ».

Plus tard, Otto Nass (2) constata également que c'était dans une solution de NaCl à 6 p. 1.000 que les muscles de grenouille conservaient le plus longtemps leur contractilité. A la suite de cette première observation, Nass étudia l'action d'autres sels et chercha à fixer quelle était pour eux, la concentration la plus favorable à la conservation de la vitalité du tissu musculaire. Cet auteur constata que pour la plupart des sels étudiés, la concentration optima répondait environ à 0,116 Normale. Il en conclut que les solutions équimoléculaires des différents sels avaient une action également favorable et que ces solutions devaient avoir la même force attractive pour l'eau ou le même équivalent endosmotique que le contenu cellulaire (3).

En 1891, Tamman (4) détermina les points cryoscopiques des solutions optimas étudiées par Nass, et les divisa, de ce point de vue, en trois groupes :

Le premier comprend les solutions de NaCl , NaBr , NaI , $\text{Na}(\text{ClF}^{\text{CO}})$ et de MgSO_4 ; leurs points cryoscopiques oscillent autour de $\Delta = -0,364$.

(1) Boruttau, loc. cit., p. 439.

(2) Otto Nass, in Pflügers Arch. T. II, p. 114. 1869.

(3) Nous verrons plus loin ce qu'il faut penser de ces conclusions.

(4) Tamman. Zeitschrift f. Physik. Chemie 1891, T. VIII, p. 685 et Pflüger's Arch. 1891. T. L., p. 626.

Le second groupe comprend les solutions de Na^+SO^4 , NaH PO^4 , MgCl^2 et de B^2O^3 avec Δ allant de $-0,430$ à $-0,540$ (c'est-à-dire avec Δ ayant une valeur supérieure à celle qu'il a dans le groupe précédent).

Enfin le troisième groupe comprend tous les autres sels étudiés par Nass. Les valeurs de Δ y sont *très différentes* les unes des autres, mais *toutes inférieures* à celles trouvées dans les deux premiers groupes.

Or, depuis que les physiiciens ont montré que dans les solutions d'électrolytes, les molécules se divisaient en *ions* et que cette ionisation variait avec chaque sel, il n'est plus possible de considérer le mot « *équimoléculaire* » comme synonyme du mot « *isotonique* ».

D'autre part, considérées du point de vue purement physique, deux solutions d'égale concentration *réelle* ou *isotoniques* ont le même point cryoscopique. Par conséquent, si Tamman a trouvé que les solutions optimas de Nass avaient des points cryoscopiques *différents*, c'est que ces solutions « *également favorables* » au tissu musculaire, n'étaient cependant pas *isotoniques*.

Ce n'est donc pas à une propriété physique (à leur concentration réelle), que les solutions optimas de Nass devaient leur égalité d'action, puisque ces concentrations étaient *inégaes* comme leurs points cryoscopiques ; mais leur *égalité* d'action, malgré leur *inégalité* de concentration réelle, montre bien qu'il doit intervenir des facteurs indépendants de cette dernière.

Les recherches de Tamman suggèrent encore la réflexion suivante : Si différents sels, pour agir d'une façon également favorable, doivent être donnés à des *concentrations réelles différentes*, il est à supposer que ces mêmes sels donnés à la *même concentration réelle*, c'est-à-dire sous forme de solutions isotoniques, ne donneraient pas des résultats identiques. C'est ce que confirment nos recherches personnelles.

Lors donc qu'un muscle est soumis à l'action d'une solution saline, deux facteurs importants doivent entrer en jeu : premièrement, la dissociation électrolytique (qui influe d'ailleurs sur le point cryoscopique) ; et deuxièmement *une action spécifique exercée par le ou les différents sels sur les parties constituantes du muscle*.

Ces questions furent l'objet de patientes recherches de la part de J. Lœb et de ses élèves : nous allons essayer de les résumer.

Phénomènes d'imbibition observés sur des muscles reposés immergés dans des solutions salines. — Lœb étudia ces phénomènes sur le *gastrocnémien* de grenouille. Il crut voir

(1) J. Lœb. Pflüger's Arch. T. LXIX, p. 1, 1897.

qu'immergé dans une solution de NaCl à 7 p. 1.000, ce muscle ne change pas de poids. Il en conclut qu'il était isotonique à cette solution quand cette dernière était rigoureusement neutre (1).

Variations de poids subies par le tissu musculaire immergé dans des solutions d'un même sel, à des concentrations différentes. — « Si (2) on met des muscles dans des solutions d'un même sel mais à des concentrations différentes, on remarque pendant la ou les premières heures, le muscle absorbe de l'eau dans les solutions hypotoniques et en perd dans les solutions hypertoniques ; il y a là une première catégorie de phénomènes qui sont indépendants, dans une large mesure, de la nature du sel. »

« Si on prépare des solutions de différentes concentration du même sel, — par exemple de NaCl , — le volume du muscle plongé dans ces solutions change d'abord d'une façon conforme à la théorie des membranes semi-perméables. Mais si on attend plus longtemps, on voit apparaître une toute autre série d'effets. Dans les solutions qui ont une pression osmotique, plus élevée que le muscle, le muscle augmente de volume et de poids d'autant plus que la solution est plus concentrée (3) (pourvu, toutefois, que la concentration ne dépasse pas une certaine limite). Le tableau suivant fait ressortir ce phénomène.

Concentration de la solution de NaCl	Augmentation du poids du muscle en 24 heures (4)
14,5 p. 1000	0,7 p. cent du poids primitif.
14 »	0,7 »
17,5 »	13 »
21 »	17,7 »
24,5 »	19 »
28 »	23,8 »

(1) J. Loeb. Pfl. Arch. T. LXIX, p. 1. 1897, T. LXXI, p. 457 1898 et Boruttan (loc. cit.).

(2) J. Loeb. Dynamique, etc., p. 89 et suivantes.

(3) Nous verrons plus tard que nos recherches sur des encéphales d'oiseaux nous ont conduit à des résultats diamétralement opposés. (H. W.).

(4) Pour que ces chiffres pussent être comparés, il faudrait qu'ils exprimassent tous le maximum de poids acquis par le muscle. Or, nous verrons plus loin que le temps auquel un tissu atteint ce maximum varie avec chaque concentration. (H. W.).

« Au premier abord, ajoute Lœb, on pourrait être tenté de conclure de ces faits que ce n'est pas la pression osmotique qui détermine les échanges liquides des cellules. Mais il faut rejeter cette supposition. C'est bien toujours la force osmotique qui intervient ; mais la pénétration des sels de sodium dans le muscle, la sortie, peut-être, d'autres sels créent des conditions nouvelles desquelles peut résulter une absorption d'eau analogue à celle que van Bemmelen a constatée sur les gels. Ces résultats n'ont rien à voir avec la mort du muscle en elle-même. En effet, si on coagule le muscle par la chaleur et qu'on le mette ensuite dans une solution de NaCl à 0,7 pour 100, on n'observe pas de changement de poids notable, même après plusieurs jours. »

Variations de poids subies par des muscles immergés dans des solutions de différents sels d'égale concentration. — Nous avons vu plus haut que Lœb avait noté que lorsque des muscles étaient immergés dans des solutions salines, ces muscles, *pendant les premières heures*, absorbaient de l'eau dans les solutions hypotoniques et en perdaient dans les solutions hypertoniques ; et que ce fait était indépendant, dans une large mesure, de la nature du sel. « Mais au bout d'un temps plus long, ajoute Lœb (1), l'influence de la pression osmotique fait place à l'action spécifique de chaque sel.

Dans une solution de NaCl à 7 p. 1.000 ou dans une solution équimoléculaire de NaBr ou de NaI , un muscle ne change pas de poids d'une façon notable en 18 heures (2).

L'augmentation de poids, quand elle a lieu, ne dépasse pas en moyenne 7 pour 100 du poids initial. Dans les solutions équimoléculaires correspondantes de sels de K, le muscle augmente de 40 p. 100 ou plus de son poids initial. Dans une solution équimoléculaire de CaCl_2 , j'ai observé après 18 heures une perte de 20 p. 100 (Pflüger's arch. T. LXXV, p. 303, 1899). Dans toutes ces solutions, le changement de poids avait été insensible pendant la première heure ».

(1) J. Lœb, loc. cit. (pages 89 et suiv.).

(2) Nous verrons plus tard que nos expériences nous ont conduit à des résultats sensiblement différents ; voyez également V page 234 et suivantes, les conclusions d'Overton.

« Ces faits s'expliquent si on admet que les sels pénètrent dans le muscle, mais beaucoup plus lentement que l'eau, de sorte que le muscle se comporte d'abord comme s'il n'était perméable qu'à l'eau et ne manifeste que plus tard les effets de la pénétration des sels. »

« En ce qui concerne l'action spécifique des sels de K , de Na et de Ca sur le muscle, on peut peut-être s'appuyer sur l'action des savons correspondants. Les savons de K sont très hygroscopiques ; ils absorbent l'eau en si grandes quantités qu'ils fondent à l'air ; les savons de Ca absorbent peu d'eau, les savons de Na occupent une position intermédiaire. L'eau est contenue dans les savons sous une forme telle qu'on peut l'en faire sortir par une pression très faible, il en est certainement de même pour une partie, peut-être pour la totalité de l'eau absorbée par le muscle. Hardy et van Bemmelen ont fait la même observation pour l'eau qui est contenue dans les gels non réversibles, comme l'albumine coagulée ou la silice. Dans les gels de ce genre, l'eau est contenue, évidemment, dans des espaces capillaires. Si l'eau du muscle peut également être exprimée par une pression modérée, on peut songer à faire l'hypothèse suivante : les sels de K , Na , Ca en concentration un peu élevée, coagulent la substance du muscle et modifient ainsi ses espaces capillaires. Mais il est possible aussi qu'une partie de l'eau entre vraiment à l'état de solution dans le muscle. » (1).

Action des acides et des bases sur l'absorption d'eau par le muscle. — L'action d'un acide est très différente selon qu'on ajoute cet acide à une solution saline isotonique ou à une solution hypertonique par rapport au tissu musculaire. Nous savons que pour Lœb (2) un gastrocnémien de grenouille immergé dans une solution de $NaCl$ à 7 p. 1.000 ne changeait pas de poids (3) quand cette solution était rigoureusement neutre. Mais si on ajoute à cette même solution isotonique au muscle gastrocnémien une petite quantité d'acide, le muscle absorbe de l'eau. Lœb s'est demandé par

(1) J. Lœb. Dynamique des phénomènes de la vie, page 90.

(2) Page 219.

(3) C'est l'opinion de Lœb que nous reproduisons ici. Nous verrons plus loin que nos recherches ne concordent pas avec celles de Lœb.

quel mécanisme les acides agissaient sur l'augmentation de poids du muscle, et fit l'expérience suivante.

Tout d'abord, il ajoute à une solution isotonique de NaCl (à 7 p. 1.000) des quantités équimoléculaires d'acides monovalents ($\text{AzO}^3\text{H}-$ ou $-\text{HCl}$), et note l'augmentation de poids obtenue par cette addition d'acide.

Il opère, ensuite, avec un acide bivalent (SO^4H^{2-}) et constate qu'il suffit qu'une telle solution ait une concentration égale à la moitié de celle qu'avaient les solutions de $-\text{HCl}$ et $\text{AzO}^3\text{H}-$ pour que, ajoutée *dans les mêmes proportions* à la solution isotonique de NaCl , elle produise la même augmentation de poids. Cette augmentation est d'environ 6 pour cent du poids initial. Lœb en conclut que la quantité d'eau absorbée par le muscle augmente avec la concentration des ions H. Ce seraient donc ces derniers qui, seuls, seraient actifs dans les phénomènes d'imbibition alors que les anions n'auraient aucune importance.

Les acides organiques agissent beaucoup plus fortement que ne le ferait prévoir leur concentration et leur degré de dissociation. Comment expliquer ce fait ? Notons d'abord que lorsque Lœb fit ses premières recherches, c'est-à-dire en 1898 (1), il fut frappé de ce que les solutions d'acides minéraux qu'il avait employées étaient dissociées dans des proportions qui dépassaient 95 p. 100. Mais cette dissociation n'avait pas lieu *pour tous les acides organiques* qui, ajoutés à une solution isotonique de NaCl , produisaient cependant une égale augmentation de poids. Lœb crut pouvoir expliquer cette dernière en invoquant une *action fermentative secondaire*. Voici comment il fut amené à cette conception.

Il s'était d'abord demandé dans quelle mesure les variations de poids du muscle étaient fonction de la différence qui existe entre la pression osmotique du muscle d'une part et celle du milieu ambiant d'autre part ; et pour répondre à cette question, il étudia les variations de poids subies par le muscle immergé dans les solutions de NaCl hypo- et hypertoniques. Il constata que ces variations de poids n'étaient pas proportionnelles à la différence entre les pressions osmotiques qui se manifestent dans le muscle d'une part, et dans le

(1) J. Lœb. Pfl. Arch. 71, 45 ; 1898.

milieu ambiant d'autre part. Mais Lœb nota que lorsqu'on diminuait la concentration d'une solution, l'augmentation de poids subie par le muscle était plus grande que ne l'était la diminution de poids quand, partant de la même solution initiale, on augmentait la concentration. Enfin, en continuant ses recherches, Lœb (1) fit cette curieuse observation (déjà relatée plus haut), à savoir qu'un muscle *augmente de poids* dans une solution isotonique de NaCl quand on l'y laisse longtemps, *et que cette augmentation de poids est encore plus sensible quand on l'immerge dans une solution hypertonique* (2), (par exemple dans NaCl à 28 p. 1.000). Or, dans toutes ces expériences, la réaction du muscle qui était primitivement *alcaline* était devenue *acide*. Cette constatation amena Lœb à émettre l'hypothèse suivante : qu'il s'agisse d'une solution isotonique de NaCl à laquelle on a ajouté directement des traces d'acide, — qu'il s'agisse d'un muscle qui se soit acidifié en passant de l'état de repos à l'état d'activité état pendant lequel il soutire de l'eau au sang), ou enfin, — qu'il s'agisse d'un muscle au repos qui s'acidifie spontanément par suite de son immersion dans une solution acide *hypertonique*, l'action des acides consiste en ce fait, que les ions H produisent une *fragmentation fermentative de la substance organique du muscle*. Cette fragmentation est corrélative d'une augmentation du nombre des molécules de cette substance organique ; il en résulte une augmentation de pression osmotique à l'intérieur du muscle qui, elle-même, entraîne enfin une pénétration d'eau (3).

Ces idées de Lœb paraissent toutefois s'être modifiées dans le cours de ses recherches ultérieures. En effet, dans son intéressant ouvrage, déjà tant de fois cité (4), nous lisons (page 91) : « Si on ajoute l'acide à une solution de NaCl non plus isotonique, mais hypertonique, on obtient l'effet inverse (à celui obtenu en ajoutant l'acide à des solutions iso- ou hypotoniques : *l'addition d'acide diminue l'absorption d'eau*

(1) J. Lœb. Pfl. Arch. 71, 457 ; 1898.

(2) Voir la note page 219.

(3) Lœb avait déjà prétendu que « l'œdème, c'est-à-dire l'irruption d'eau dans les tissus, se produisait quand la pression osmotique au sein des tissus était supérieure à celle du sang et de la lymphe », processus auquel participaient principalement les muscles par *la formation d'acide*.

(4) Dynamique des phénomènes de la vie. Alcan 1908.

par le muscle. Au contraire, les ions *OH* des alcalis augmentent l'absorption dans toutes les circonstances... Tout ceci peut s'expliquer en admettant que les acides et les alcalis qui pénètrent dans les tissus y déterminent, — peut-être par suite d'une combinaison chimique avec les albuminoïdes, — des changements qui modifient les conditions de l'absorption et de la sortie de l'eau. La force osmotique resterait l'agent principal de tous les échanges liquides ; mais les corps qui atteindraient une concentration trop élevée modifieraient les structures et, par suite, les conditions d'absorption. »

R. Höber (1) propose une autre explication de l'action des acides. On savait depuis Hamburger que des acides, l'acide carbonique par exemple, augmentent la perméabilité des globules rouges pour certains anions (2). Or, selon Höber, cette perméabilité plus grande pour les anions doit amener des différences de potentiel entre la surface interne et la surface externe de la paroi cellulaire, la surface interne de la paroi semi-perméable prenant une charge positive. Si ces différences de potentiel déterminent un courant, il peut en résulter une cataphorèse de l'eau et des particules qu'elle contient en solution ; certaines substances pourraient ainsi entrer et sortir de la cellule. Mais ce n'est là, fait observer Loeb, qu'une pure hypothèse.

Nous avons vu (page 222) que Loeb avait attribué la formation des œdèmes à des modifications de la pression osmotique, modifications auxquelles participaient principalement les muscles par la formation d'acide. En 1910, H.-M. Fischer (3) émit sa théorie sur l'œdème, théorie que l'on peut résumer de la façon suivante. Il y a œdème dès que les tissus sont en présence d'une quantité d'eau suffisante, et qu'il se produit dans les tissus une augmentation du pouvoir attractif normal des colloïdes pour l'eau. Cette augmentation du pouvoir attractif pour l'eau a pour principale cause une accumulation anormale d'acide dans les tissus ou une élimination insuffisante d'acide hors des tissus. Fischer fait cependant observer qu'il est possible que l'augmentation du pouvoir attractif pour l'eau soit produite par certaines substances dont la formation ou l'accumulation influencerait les colloïdes de la même façon que les acides. H.-M. Fischer cite les faits suivants à l'appui de sa théorie.

(1) R. Höber, Pfl. Arch. CII, 196 ; 1904.

(2) Voir chapitre III, page 92.

(3) H. M. Fischer. Das Ödem. Steinkopf. Editeur Leipzig 1910.

1° On constate toujours une accumulation d'acides quand un œdème commence à se former.

2° L'évolution d'un œdème est toujours entravée par les substances qui ont la propriété de diminuer le pouvoir attractif des émulsions colloïdales pour l'eau, alors que les œdèmes ne sont nullement influencés par les substances qui n'ont pas cette propriété.

3° Toutes les influences chimiques qui déterminent une surproduction d'acide ont pour conséquence la formation d'œdème.

En 1912, R.-A. Moore (1) fit les objections suivantes à H.-M. Fischer.

En expérimentant sur des pattes de grenouille, Moore constata qu'un œdème artificiel dans le genre de celui indiqué par Fischer peut se produire sans que des acides y prennent part. Bien plus, des muscles de grenouille immergés dans une solution de Ringer à laquelle on ajoute des petites quantités d'acide lactique se recroquevillent ; et ce n'est qu'après avoir ajouté de très grandes quantités d'acide que l'on voit le muscle se gonfler. Enfin Moore observa que les muscles immergés dans une solution de Ringer acidulée meurent toujours et deviennent rigides *avant* que n'importe quel gonflement notable ne se soit produit. Moore conclut de ses expériences que la théorie de Fischer manque de contrôle expérimental. Enfin, en 1915, Moore montra que les œdèmes étaient la conséquence de troubles circulatoires.

Nous n'avons fait allusion aux idées de Lœb sur l'œdème que parce que cet auteur établit une certaine corrélation entre ce phénomène pathologique et l'imbibition du tissu musculaire. Si nous revenons maintenant à ce dernier processus qui nous intéresse plus particulièrement, nous croyons que, selon Lœb, il consiste essentiellement en un phénomène osmotique conditionné par une membrane qui entourerait les fibrilles musculaires du muscle strié. En effet, dans un travail récent (2), Lœb accepte les conclusions de Moore sur l'œdème, « mais, dit-il, la question suivante reste posée : Comment la formation d'acide lactique (ou de tout autre acide) peut-elle entraîner une augmentation d'absorption d'eau de la part du muscle ? »

On se rappelle qu'en 1898 (3), J. Lœb avait supposé que les ions H agissaient comme un ferment hydrolytique et aug-

(1) R. A. Moore. Lässt sich ein œdem durch den Säuregehalt der Gewebe erklären ? Pfl. Arch. 147, 20 ; 1912.

(2) J. Lœb. The relation of osmotic pressure and imbibition in the living muscle.

(3) Voyez page 222.

mentaient le nombre de molécules en solution dans le muscle en fragmentant certaines grosses molécules en molécules plus petites. « Ceci est naturellement possible, mais nullement démontré dans le cas qui nous occupe.

« Une seconde hypothèse est la possibilité d'une élévation de la pression osmotique de certains colloïdes sous l'influence de l'acide, ainsi que cela a été observé par Lillie, Moore, Roaf et d'autres auteurs.

« Une troisième hypothèse pourrait s'appuyer sur l'explication de l'imbibition donnée par Procter, Pauli et tout récemment par Katz. D'après ces auteurs, nous pouvons supposer que par suite d'une combinaison chimique, de l'acide avec une protéide, cette dernière forme avec l'eau des hydrates définis ; ce processus s'accompagnerait d'une diminution de volume avec production de chaleur. Quand il y a formation d'acide dans le muscle, les protéines de ce dernier se combinent avec l'acide et de l'eau. Le nombre de molécules d'eau qu'une molécule d'acide-protéine (ou plutôt de protéine-cation) peut fixer, semble considérable. Cette eau est soustraite non au milieu extérieur, mais au liquide existant à l'intérieur du muscle. Comme conséquence du déplacement des molécules d'eau libres, la solution interne du muscle devient plus concentrée et atteint une pression osmotique supérieure à celle d'une solution de NaCl à $\frac{N}{8}$.

Il suit de là que si un muscle de ce genre est immergé dans une solution de NaCl de concentration égale à $\frac{N}{8}$, la différence entre la pression osmotique des lipoides existant à l'intérieur et celle des lipoides existant à l'extérieur du muscle doit aboutir à une diffusion d'eau vers l'intérieur du muscle.

« La force *directrice* présidant aux échanges d'eau entre le muscle et la solution ambiante est donc toujours la *pression osmotique*. Ces faits sont tellement évidents, conclut J. Loeb, que tout commentaire eût été superflu si Wolfgang Oswald et d'autres chimistes n'avaient contesté l'existence de membranes semi-perméables chez le muscle en s'appuyant sur ce fait que les acides favorisaient l'imbibition de protéines. Il m'a paru intéressant de montrer que l'imbi-

bition des protéines musculaires sous l'influence d'un acide formé à l'intérieur du muscle n'est en contradiction ni avec l'hypothèse d'une membrane semi-perméable autour des fibrilles du muscle strié, ni avec ce fait que c'est la pression osmotique qui joue le rôle prépondérant dans les échanges d'eau entre le muscle et la solution ambiante.

Nature de la membrane plasmique du tissu musculaire d'après Lœb. — Quelle serait la nature exacte de cette membrane ? Nous avons vu (1) que d'après cet auteur, elle agirait (au moins au début de l'expérience) comme une membrane hémiperméable. Cependant Lœb admet la pénétration ultérieure des molécules salines, ce qui ne laisse pas que d'être d'une interprétation un peu difficile. Cet auteur est d'ailleurs revenu à deux reprises sur cette question. Une des deux publications auxquelles nous faisons allusion a paru dans le journal « Science » (2).

Après avoir rappelé les expériences de de Vries sur la plasmolyse (3), et celles d'Hédin (4) sur les globules rouges, il revient sur les expériences faites sur l'imbibition du tissu musculaire qu'il considère comme plus probantes que celles faites sur les globules sanguins à cause de la difficulté qu'il y a à distinguer les globules morts de ceux qui sont encore vivants. En s'appuyant :

1^o sur les expériences de Nass (voyez p. 216) et sur ses propres expériences d'après lesquelles un muscle de grenouille ne change pas de poids dans une solution de NaCl de concentration égale à $\frac{N}{8}$ alors qu'il en perd (5) dans des solutions plus concentrées et en gagne dans des solutions plus diluées, et

2^o sur ce fait que les autres sels de Na, de même que les sels LiCl, KCl, CaCl₂, etc., agiraient comme NaCl (6) en s'appuyant sur ces deux ordres de faits, Lœb conclut que

(1) Voyez page 220.

(2) J. Lœb. « La loi d'Avogadro et l'absorption d'eau par les tissus animaux dans les solutions cristalloïdes et colloïdes » « Science » 21 mars 1913.

(3) Voir chapitre I. Etude de l'osmose.

(4) Hédin. Pflug. Arch. 67, 1897.

(5) C'est ce que nous ont montré nos expériences ; mais Lœb n'a pas toujours été de cet avis (voyez page 218).

(6) Nos recherches nous ont conduit à des résultats absolument différents. (Voyez deuxième partie).

l'absorption d'eau par le muscle est déterminée par la loi de Van t'Hoff. *Ce serait, selon Lœb, le nombre de molécules présentes dans la solution et non pas leur caractère chimique qui déterminerait les échanges d'eau entre le muscle et la solution ambiante.* Lœb crut être confirmé dans cette manière de voir, par les réflexions suivantes.

Dans une solution de NaCl à 7 p. 1.000 $\frac{(N)}{8}$, 85 p. 100 des molécules sont dissociées, d'où il suit que pour préparer une solution de non électrolytes ayant même pression osmotique, il faudra préparer une solution ayant une concentration égale à 0,231 N. Ainsi, une solution de sucre ayant une concentration égale à 0,200 N devra produire une augmentation de poids d'un muscle strié, tandis qu'une solution sucrée de concentration égale à 0,250 N devra produire une diminution de poids de ce même tissu. C'est, en effet, ce que confirment les expériences de Lœb. Cependant, cet auteur fait observer que tandis que l'augmentation de poids du muscle dans des solutions équimoléculaires et hypotoniques de NaCl et de sucre est sensiblement la même, la diminution de poids dans les solutions hypertoniques de sucre est plus marquée que celle qui se produit dans les solutions hypertoniques équimoléculaires de NaCl (Webster). Lœb attribue ce fait à ce que les solutions de sucre de canne ont une pression osmotique élevée, et que cette anomalie semble être plus prononcée à mesure que la concentration s'élève.

Pour Lœb, les lois d'Avogadro et de Van t'Hoff ne règlent pas seulement les échanges d'eau qui ont lieu entre le tissu musculaire et son milieu ambiant, mais elles s'étendent aussi aux autres organes. Il fait observer que Siebeck, dont nous résumerons plus tard les recherches (voir page 269) arrive aux mêmes conclusions que lui en opérant sur le rein. Pour Siebeck comme pour Lœb, les solutions de NaCl , NaBr , LiCl , LiBr , KCl , CaCl_2 , MgCl_2 , sucre de canne, la solution de Ringer ne produisent aucun changement de poids sur le rein quand ces solutions sont équimoléculaires à une solution de NaCl à 7 pour 1.000.

Mathew arrive également à cette conclusion en opérant sur le système nerveux (1).

(1) Mathew. *Americ. Journal of physiol.* 2, 455; 1904.

Meigs (1), il est vrai, fait observer que les muscles lisses (estomac), ne se comportent pas comme les muscles striés ; mais Lœb objecte à Meigs que les écarts observés dans les expériences faites sur les fibres lisses de l'estomac doivent être dus à des erreurs d'expériences tenant à ce que la préparation de ces muscles lisses présente de grandes difficultés techniques (2).

Lœb demeure donc le défenseur de la loi de Van t'Hoff comme conditionnant les échanges d'eau entre les tissus et leur milieu. « Tant qu'en biologie, nous n'avons à faire qu'à des résultats qualificatifs, on peut douter de l'application d'une loi physique à des phénomènes vivants. Mais quand les chiffres de l'expérience concordent avec les chiffres calculés, à l'avance, nous pouvons être sûrs que la loi tient bon. »

Lœb n'ignore pas que quelques auteurs ont affirmé que la force avec laquelle certaines solutions protéiques ou colloïdales absorbaient de l'eau n'était pas déterminée par les lois d'Avogadro et de Van t'Hoff ; mais il croit que Perrin (3) a résolu le problème en montrant que la loi de Van t'Hoff était applicable aux solutions colloïdales et, en général, à toutes les solutions, que les molécules soient petites ou grandes. Pour le prof. Perrin, les lois qui s'appliquent « aux gaz parfaits peuvent s'appliquer aux émulsions faites avec des particules visibles ».

Beutner (4), élève de Lœb, étudia les changements de poids survenus dans deux gastrocnémiens, l'un immergé dans une solution de liquide de Ringer équimoléculaire à $\frac{N}{8}$ NaCl, l'autre dans une solution analogue à laquelle on avait ajouté 2 p. 100 de gélatine. L'expérience montre que les variations de poids sont très peu différentes dans les deux liqueurs.

Dans une autre expérience, le liquide dans lequel le muscle était immergé était du sang dialysé pendant 10 heures à travers du papier de parchemin. Or, les changements de

(1) Meigs *Journal of Experiment. Zoology* 13, 498 ; 1912.

(2) Meigs a répondu victorieusement, croyons-nous à cette objection de Lœb. Nous reproduisons plus loin sa réponse (V. page 258).

(3) Perrin « les atomes », page 128. Paris 1912.

(4) Beutner. *Biochem. Zeitsch.* 48.

poids observés dans du sang presque complètement privé de ses sels étaient sensiblement les mêmes que ceux observés dans une solution de NaCl équimoléculaire (c'est-à-dire d'une concentration égale à $\frac{N}{120}$). Ces résultats, dit Lœb, prouvent que les protéines en solution attirent l'eau par suite de leur pression osmotique et non par suite d'une autre propriété réelle ou supposée (1).

Conception de Lœb de la couche limitante des cellules en général. — L'existence de parois semi-perméables, dit Lœb, permettant le transit de l'eau à l'exclusion des substances qui y sont dissoutes, est une condition nécessaire à l'exercice de la pression osmotique. Lœb ne s'expliquerait pas les phénomènes d'équilibre osmotique dans les tissus animaux si la cellule n'était pas pratiquement imperméable aux sels. Toutefois, Lœb admet trois types de membranes :

Les premières seraient rigoureusement hémiperméables, et ne laisseraient passer que l'eau à l'exclusion des sels, des sucres et de toute autre substance ; c'est le type le plus commun.

Les secondes seraient perméables à l'eau, aux sucres, et aux sels, mais imperméables aux colloïdes ; la membrane germinative de l'œuf d'oursin appartient à ce type.

Enfin, les troisièmes ne seraient perméables ni aux sels ni à l'eau ; ce serait le cas des membranes de l'œuf du *Fundulus*, et apparemment du *Fundulus* lui-même. Ce serait probablement aussi le cas des membranes appartenant à un grand nombre d'autres vertébrés aquatiques.

Cependant ces trois sortes de membranes sont perméables aux gaz (O_2 , CO_2) dissous dans l'eau.

Mais en admettant l'existence de membranes rigoureusement hémiperméables, Lœb se demande comment expliquer l'action de certains électrolytes sur les tissus vivants, comme, par exemple, l'action du NaCl et du CaCl_2 sur la contractilité musculaire. *A priori*, il est impossible de concevoir une telle action sans admettre la pénétration de sels à tra-

(1) C'est précisément le grand mérite de Mayer et Schaeffer d'avoir montré qu'il existe « une autre propriété » des colloïdes ignorée de Lœb : la *pression d'imbibition*. Nous y reviendrons longuement dans la 3^e partie de notre mémoire.

vers la membrane. Mais ses recherches, ainsi que celle de son élève Beutner (1) l'ont amené à conclure qu'il se produit entre les cellules et les électrolytes dissous dans leur milieu ambiant des réactions chimiques amenant des différences de potentiel, et amenant, par conséquent, la production d'une force électro-motrice au niveau des surfaces limitantes des cellules. Ces réactions sont réversibles, ce qui impliquerait, selon Lœb, que seulement des *traces* d'électrolytes prennent part à la réaction. C'est cette dernière qui déclancherait les phénomènes observés à la suite du contact des électrolytes avec les tissus.

La semi-perméabilité de la membrane cellulaire serait d'ailleurs aussi exposée à des altérations diverses que le sont les membranes artificielles de Pfeffer ; et il suffirait qu'une cellule fût en contact avec une solution de constitution ou de concentration anormales pour que sa membrane perdît sa propriété d'hémi-perméabilité. Le milieu normal, pour que les cellules animales gardent leur hémi-perméabilité est un liquide contenant NaCl , KCl et CaCl^2 dans des proportions presque identiques à celles que ces sels ont dans l'eau de mer. Dans tout autre électrolyte, ou dans une solution composée uniquement d'un des trois sels énumérés ci-dessus, la cellule perd plus ou moins vite son hémi-perméabilité et meurt.

Ces faits pourraient s'expliquer, selon Lœb, en admettant des interactions entre les électrolytes et les tissus vivants, interactions qui amèneraient des modifications physiques à la surface des tissus. C'est ainsi que Lœb explique ses expériences (2) sur un poisson marin : le *Fundulus*.

Des œufs de « *Fundulus* » nouvellement fécondés se développent normalement dans de l'eau distillée, et éclosent. Placés dans une solution de NaCl de concentration égale à $\frac{\text{N}}{2}$, ou mieux à $\frac{5}{8} \text{N}$, ces œufs fécondés meurent sans former d'embryons.

Enfin, si on ajoute à la solution de NaCl une petite quantité d'un sel bivalent, on voit de nouveau que les œufs for-

(1) Beutner. *Biochem. Zeitschr.* 47, 73 ; 1912.

(2) J. Lœb. « *Science* » 34, 653 ; 1911. — *Pfl. Arch.* 107, 252 ; 1905.

ment un embryon. Voici quelle serait l'explication de ces faits : quand les œufs nouvellement fécondés sont placés dans une solution de NaCl à $\frac{5}{8}$ N, le NaCl rend les membranes de l'œuf (normalement imperméables) graduellement perméables (1) ; le NaCl entre dans les œufs et tue le germe. Si une petite quantité de Ca est ajoutée au NaCl , cette altération de la membrane est empêchée ; il n'y a pas de NaCl qui entre dans l'œuf, et le germe peut vivre et se développer. Dans l'eau distillée, la membrane reste imperméable aux sels ovulaires en même temps qu'à l'eau extérieure, et l'embryon peut se développer.

D'autres expériences (2) ont amené Lœb aux conclusions suivantes :

a) Dans des solutions en équilibre physiologique (par exemple dans une solution composée de $\text{NaCl} + \text{KCl} + \text{CaCl}_2$ dans les mêmes proportions que ces sels sont contenus dans l'eau de mer) la semi-perméabilité cellulaire est conservée longtemps sinon d'une façon permanente.

b) Dans une solution ne contenant qu'un sel minéral, la perméabilité de la membrane est, en général, augmentée dès que la concentration du sel dépasse certaines limites. Ces limites varient avec chacun des sels employés et aussi avec les différents animaux soumis à l'influence de la solution. C'est ce qui explique, par exemple, qu'une solution de NaCl est plus rapidement mortelle chez un animal que chez un autre. Lœb fait observer que, dans l'évolution de ces phénomènes, la nature chimique du sel dissout a une importance primordiale. Cette relation entre la conservation de la perméabilité et la constitution chimique du milieu ambiant suggère l'idée de la possibilité d'une interaction chimique entre les parois cellulaires d'une part et la solution ambiante d'autre part. Ce conflit amènerait des modifications dans les propriétés chimiques et physiques de la membrane semi-perméable de la cellule. Mais malgré les restrictions qu'implique cette hypothèse, les conclusions de Lœb dans son

(1) Il est possible que ce soit le cas pour les œufs de *Fundulus* ; mais nous verrons plus loin que ce n'est pas le cas pour les cellules de l'encéphale. L'action NaCl s'exerce en diminuant leur perméabilité.

(2) J. Lœb. *Biochem. Zeitschr.* 47, 127 ; 1912.

article du 21 mars 1913 (Science) sont que les échanges osmotiques obéissent à la loi d'Avogadro-Van t'Hoff tant que les tissus sont normaux.

Phénomènes d'imbibition en rapport avec l'activité musculaire. — Dès 1865 Ranke (1) avait fait observer que, pendant son activité fonctionnelle, le muscle vivant soutirait de l'eau au sang. Le tissu musculaire à l'état d'activité s'imbibe, selon Ranke, d'une quantité d'eau égale à celle qui est soustraite au sang. Il constata, ensuite, qu'un muscle, immergé après avoir été *fatigué* prend de l'eau dans des solutions salées, alors qu'un muscle *reposé* ne s'imbibe pas. Ranke constata enfin qu'il ne se produit pas de phénomènes d'imbibition sur les muscles en état de rigidité cadavérique.

Dès cette époque (1865) Ranke émit une hypothèse semblable à celle que devait émettre Lœb (2) longtemps après, et d'après laquelle cette imbibition serait due à des produits de dissociation (Spaltungs produkte) qui résulteraient de l'activité musculaire. Ces produits augmenteraient ce que Ranke appelait la *faculté d'imbibition* (Imbibition fähigkeit) du muscle.

En 1898, Mlle Cook (3), sous la direction de Lœb, reprit les expériences de Ranke et confirma ses conclusions. Ranke avait constaté qu'après avoir été soumis à une tétanisation jusqu'à épuisement, un gastrocnémien de grenouille immergé dans de l'eau distillée pendant 10 minutes subissait une augmentation de poids supérieure de 4 p. 100 à celle que subissait le muscle témoin. D'autre part, ayant immergé deux muscles l'un après tétanisation, l'autre après avoir été laissé en repos, dans une solution de NaCl à 7 p. 1000, le même auteur nota que le muscle tétanisé avait subi une augmentation de poids supérieure de 11 p. 100 à celle qu'avait subie le muscle témoin.

Recherches d'Overton sur l'imbibition du tissu musculaire. En 1902, Overton (4) fit observer que des recherches nouvel-

(1) Ranke. Tétanos Leipzig 1865.

(2) Voyez V, pages 222 et suivantes.

(3) Mlle Cook, Journal of Physiol. 23, 137; 1898.

(4) Overton. Pfl. Arch. 92, 115; 1902.

les s'imposaient touchant l'action des solutions salines sur le tissu musculaire et les phénomènes osmotiques dont ce dernier était le siège ; et à propos des travaux de Lœb parus sur ce sujet jusqu'en 1902, Overton crut devoir faire les remarques suivantes (1) :

1° Dans les commentaires dont Lœb fait suivre ses expériences, le muscle est, au fond, considéré tout entier comme assimilable à un sac contenant une solution aqueuse homogène et dont la paroi serait une membrane semi-perméable.

Or, il faut d'abord faire une distinction entre les fibres musculaires et la lymphe tissulaire qui les baigne. Le péri-mysium est facilement perméable à toutes les solutions salines ; seules, les fibres musculaires, considérées individuellement offrent un obstacle sérieux à la pénétration des molécules salines et de leurs ions.

D'autre part, le contenu de la fibre musculaire ne doit pas être considéré comme une solution aqueuse homogène, mais comme un système à plusieurs phases.

2° Dans toutes les expériences de Mlle Cook et de Lœb, l'évolution des phénomènes dont le muscle est le siège a été insuffisamment analysée ; et, en particulier, l'état d'équilibre final n'a pas été suffisamment étudié.

3° On n'a pas tenu compte de ce fait, que les conditions de perméabilité des fibres musculaires étaient complètement modifiées par leur lésion et par leur mort.

Overton entreprit, à son tour, une série de recherches sur les phénomènes d'imbibition en opérant sur des gastrocnémiens de grenouille et sur d'autres muscles encore. Dans une première partie de son ouvrage (loc. cit.) il étudia l'action des solutions hypo- et hypertoniques de NaCl et d'autres solutions salines. Dans la seconde partie du travail, il étudia les conditions de perméabilité des fibres musculaires vivantes pour différents groupes de composés organiques, et aussi pour quelques combinaisons inorganiques.

Les méthodes d'investigation dont se servit Overton dans ses recherches reposent, d'après ses explications, sur les principes suivants :

(1) Les pages qui vont suivre sont empruntées au mémoire de Boruttan in « Muskel und Nerven Physiologie » in « Physiologische Chemie und medizin » de Koranyi et Richter. Leipzig 1907.

La constance de poids d'un muscle vivant et non lésé dans une solution de NaCl à 7 p. 1000, par exemple, tient tout d'abord à ce que la pression osmotique qu'exerce cette solution sur la couche superficielle semi-perméable des fibres musculaires, à ce que cette pression osmotique annule exactement la pression en sens inverse qu'exerce le contenu de la fibre musculaire sur cette même couche limitante ; et en second lieu à ce que la couche limitante est imperméable aussi bien au NaCl qu'aux substances qui constituent les fibres musculaires, -- à l'exception de l'eau. On conçoit immédiatement que si un muscle préalablement immergé dans cette solution est transporté dans une autre solution isotonique, *mais dont les substances en solution soient en partie susceptibles de pénétrer à l'intérieur des fibres musculaires*, on conçoit que le muscle absorbera de l'eau dans cette seconde solution ; car par suite de la pénétration, à l'intérieur de la fibre musculaire, de substances étrangères, la pression osmotique de contenu des fibres musculaires se trouvera augmentée. Supposons, par exemple, que les fibres musculaires vivantes soient perméables à l'alcool éthylique, et opérons sur un muscle préalablement immergé dans une solution de NaCl à 7 p. 1000. Si nous transportons ce muscle dans une solution contenant 1 p. 1000 de NaCl et 4 p. 1000 d'alcool éthylique, nous verrons que ce muscle augmentera de poids bien que cette seconde solution soit isotonique à la première solution de NaCl à 7 p. 1000. Cela tient à ce que, par suite du passage d'alcool à l'intérieur de la fibre musculaire, la pression osmotique se trouve augmentée à l'intérieur de cette dernière. Voici d'ailleurs les conclusions d'Overton telles que nous les avons trouvées reproduites dans le mémoire Boruttau (1).

1. — Au point de vue osmotique, un muscle doit être considéré comme un système composé d'éléments *semi-perméables* (c'est-à-dire par les fibrilles musculaires proprement dites, à l'exclusion du sarcolemme). Les enveloppes qui entourent *l'ensemble des fibrilles musculaires* (c'est-à-dire le sarcolemme et le *perimysium interne*), aussi bien que l'enveloppe qui entoure l'ensemble de tout le système osmoti-

(1) Boruttau (loc. cit.).

que que constitue le muscle (c'est-à-dire le perimysium externe) ont des propriétés osmotiques différentes de celles que possèdent les fibrilles musculaires ; ces enveloppes n'opposent à la diffusion de la plupart des composés cristalloïdes qu'une faible résistance, tandis que les fibres musculaires proprement dites sont complètement ou presque complètement imperméables à la plupart des combinaisons inorganiques — au moins quand les fibres sont intactes.

2. — Par contre, vis-à-vis des combinaisons colloïdales, le périmysium externe, et les différentes enveloppes qui entourent les fibrilles musculaires (comme d'ailleurs les fibrilles musculaires elles-mêmes) se montrent imperméables ou très difficilement perméables ; et sous ce rapport, comme à beaucoup d'autres points de vue, ces enveloppes se comportent comme les parois cellulologiques des cellules végétales.

3. — Quand un muscle vivant est transporté d'une solution saline fortement concentrée dans une solution ayant une pression osmotique moindre, les fibres musculaires absorbent de l'eau. En même temps, une partie du liquide qui se trouve entre les fibres musculaires, — ou, plus exactement, une partie de l'eau qui entre dans la constitution de ce liquide — ainsi que les sels qui y sont dissous, est exprimée hors du muscle. Les matières albuminoïdes dissoutes dans ce même liquide ne suivent pas ce mouvement d'expression, ou, du moins, elles n'y participent que dans une très faible mesure.

Dans le cas opposé à celui que nous venons d'examiner, c'est-à-dire quand un muscle est transporté d'une solution saline de faible pression osmotique dans une solution de pression osmotique supérieure, les fibres musculaires abandonnent de l'eau. Cependant, une partie seulement de cette eau soustraite aux fibres musculaires abandonne le muscle, tandis que l'autre partie amène simplement un accroissement de la quantité de liquide qui se trouve réparti dans l'intervalle des fibres musculaires. Cela tient à ce qu'à l'état normal, le périmysium n'étant que très modérément tendu, il ne peut fournir qu'un faible effort dans le but de diminuer le volume total du muscle, c'est-à-dire la somme des volumes constitués par l'ensemble des fibres musculaires d'une

part, et par le volume de la solution qui baigne leurs intervalles d'autre part.

4. — De ce qui vient d'être dit, il résulte que lorsqu'il se produit une modification dans la pression osmotique du milieu dans lequel baigne le muscle, le volume et le poids du muscle pris dans son ensemble n'augmentent ou ne diminuent pas dans les mêmes proportions que le volume et le poids des fibrilles musculaires prises isolément.

5. — Quand un muscle est plongé dans une solution saline non toxique, et isotonique au sérum sanguin de l'animal auquel ce muscle a été pris, ce dernier absorbe une certaine quantité d'eau tant que la solution saline en question ne contient pas de colloïdes en solution. Ceci provient de ce que la lymphe qui se trouve dans l'intervalle des fibres musculaires contient une certaine quantité d'albumine dissoute pour laquelle le périnysium n'est pas ou presque pas perméable. La pression osmotique partielle de cette albumine provoque le passage d'une certaine quantité de la solution saline extérieure dans le liquide interstitiel du muscle. Si, par contre, il se trouve un corps colloïde dissous dans la solution qui baigne le muscle, malgré la très petite augmentation de pression osmotique que subit par ce fait la solution en question, il peut se produire une notable diminution de poids du muscle par ce qu'une notable partie du liquide interstitiel abandonne le muscle. Mais si, dès le début de l'expérience, la quantité de liquide interstitiel est faible (comme cela arrive quand le muscle baignant dans une solution de faible pression osmotique, les fibres musculaires ont absorbé beaucoup d'eau) (1), alors l'addition d'un colloïde à la solution extérieure au muscle ne produit qu'une petite diminution de poids de ce dernier.

6. — Bien que, normalement, le sang de grenouille soit isotonique avec une solution de NaCl à environ 6 ou 6,5 p. 1000, un muscle de grenouille reste vivant presque aussi longtemps dans une solution de NaCl à 4 p. 1000 ou même à 3,5 p. 1000 que dans une solution de NaCl à 7 p. 1000. Dans une

(1) Voyez § 3, de ces conclusions, page 235.

solution de NaCl à 4 ou 5 p. 1000 l'excitabilité est même un peu augmentée.

Dans une solution de NaCl à 3 p. 1000, la survie de la plupart des muscles de grenouille est environ de moitié moins longue que dans NaCl à 6 ou 7 p. 1000. Un peu avant que se produise un équilibre de poids (c'est-à-dire un peu avant que le poids ait atteint une valeur constante) on constate sur les muscles immergés dans NaCl à 3 p. 1000 que l'excitabilité est, sinon considérablement, du moins nettement diminuée.

Dans NaCl à 2 p. 1000, les muscles de grenouille perdent complètement leur pouvoir contractile déjà bien avant que le muscle ne soit parvenu à un poids constant. Dans une telle solution la conductibilité se perd petit à petit, mais moins vite cependant que la contractilité. Tant que la propriété de conductibilité (*Erregungsleitung*) n'est pas abolie, la contractilité du muscle peut encore réapparaître en partie si on transporte le muscle dans une solution de NaCl plus concentrée. Après la disparition complète de la conductibilité, un muscle qui a été immergé dans une solution de NaCl à 2 p. 1000 (ou dans une solution plus diluée encore) perd sa contractilité d'une façon définitive, c'est-à-dire que cette dernière ne réapparaît pas, même quand on transporte le muscle dans une solution plus concentrée.

7. — La plupart des muscles de grenouille plus minces que le gastrocnémien (comme, par exemple, les sartorius) sont déjà tués par une solution de NaCl à 9 p. 1000 ou par des solutions isotoniques d'autres sels de sodium. Ce fait doit être considéré comme étant la conséquence de la soustraction d'eau que subit le muscle, et non pas comme étant le résultat de quelque action nocive spécifique qu'exerceraient les sels de Na à des concentrations élevées ; ce qui le prouve, c'est que si on plonge le muscle dans un mélange composé de solutions de divers sels de Na auxquels on a ajouté du sucre de façon à ce que la pression osmotique du mélange soit égale à 9 p. 1000, on observe exactement les mêmes phénomènes que dans une solution de NaCl à 9 p. 1000.

Les muscles du pied et des orteils semblent être un peu plus résistants à l'action nocive de leur déshydratation que les sartorius.

Dans une solution de NaCl à 8 ou à 8,5 p. 1000, les sarto-

rius restent longtemps en vie en gardant leur pouvoir contractile. Il est rare, dans ces solutions, d'observer des contractions *spontanées*.

8. — Quand un muscle, par exemple un sartorius, a séjourné dans une solution de NaCl à 7 p. 1000 jusqu'à ce qu'il ait atteint un poids constant (1), et qu'il est transporté dans une solution de NaCl à 3 p. 1000, son poids n'augmente guère que d'un tiers de son poids initial. Or, comme la tension élastique du sarcolemme et du périnysium est faible, la petitesse de cette augmentation de poids prouve que le contenu des fibres musculaires ne se comporte pas comme une simple solution aqueuse, et que toute l'eau contenue dans les fibres musculaires ne s'y trouve pas sous forme de solution aqueuse, mais qu'une partie de cette eau s'y trouve sous forme d'eau de gonflement (in Gestalt von Quellungs-wasser). Il n'est d'ailleurs pas impossible que le gonflement lui-même ne soit autre chose qu'une « *solution solide* » dans laquelle l'eau serait le composé dissous, et les corps albuminoïdes, etc. joueraient le rôle de dissolvants.

9. — Quand un muscle meurt dans une solution de NaCl à 6 ou 7 p. 1000, que l'on ait ajouté ou non une substance nocive à cette solution, il augmente notablement de poids pendant et après la mort. Cela tient à ce que les fibres musculaires, comme toutes les cellules, modifient, en mourant, leurs propriétés osmotiques. Par suite de cette modification, les fibres musculaires deviennent plus facilement perméables au NaCl et aux autres sels qu'au phosphate de potassium qu'elles contiennent dans leur intérieur. De même, l'augmentation de poids qui se produit rapidement quand un muscle est immergé dans une solution de NaCl à 9 p. 1000 (ou à des concentrations plus élevées encore) tient à la mort progressive des fibres musculaires et à la pénétration de NaCl à l'intérieur de ces fibres, pénétration qui est, elle-même, une conséquence de la mort des fibres.

Lorsqu'au contraire, la mort du muscle se produit dans une solution de sucre de canne ou de lactose isotonique à

(1) Ceci implique évidemment qu'un muscle immergé dans NaCl à 7 p. 1000 change de poids, contrairement à ce que prétendait Lœb. Voyez page 218.

une solution de NaCl à 7 p. 1000, le poids du muscle diminue un peu par sa mort. Cela tient à ce que les fibres mourantes sont d'abord un peu plus difficilement perméables pour les sucres que pour le phosphate de potasse et les autres substances extractives contenues dans les fibres musculaires.

Action des acides et des bases sur la perméabilité du tissu musculaire.

10. — L'augmentation de poids que subit un muscle plongé dans une solution de NaCl à 7 p. 1000 et à laquelle on a ajouté une petite quantité d'acide ou d'alcali, cette augmentation de poids est liée également à la mort de toutes ou au moins d'une partie des fibres musculaires et du changement que cette mort amène dans la perméabilité des fibres musculaires.

L'addition d'acides ou d'alcalis très dilués modifie en même temps les conditions de gonflement du muscle. Mais l'augmentation du gonflement musculaire ne tient pas à l'élévation de la concentration moléculaire consécutive à une fragmentation des parties constituantes des fibres musculaires (1) Il s'agit plutôt d'un phénomène du même ordre que le gonflement de la fibrine du sang dans des acides faibles.

Le gonflement du muscle dans les solutions acidulées dépend beaucoup de la nature des solutions. Par exemple, le gonflement est beaucoup plus grand dans une solution de sucre de canne ou de lactose isotonique à une solution de NaCl 7 p. 1000 et contenant 1 : 10.000 HCl , que dans une solution de NaCl 7 p. 1000 contenant la même quantité du même acide.

11. — Les acides organiques faibles produisent une augmentation de poids plus considérable que les acides forts pour lesquels la dissociation électrolytique seule (c'est-à-dire l'augmentation de la concentration des ions H) entre en jeu. Cela tient probablement à ce que les fibres musculaires, comme d'ailleurs les autres cellules animales ou végétales, sont très facilement perméables, même à l'état sain, aux molécules non ionisées de nombreux acides organiques. C'est le

(1) Comme le prétendait Lœb. Voyez page 221.

cas pour tous les acides dont le coefficient de partage entre l'eau et l'éther, même dans des solutions très diluées, est au profit de l'eau. Au contraire les fibres musculaires ne sont perméables aux ions que lorsqu'elles sont lésées, ou en tout cas, dans des conditions toutes particulières.

Perméabilité des fibres musculaires aux alcools.

12. — Quand un muscle, primitivement immergé dans une solution de NaCl à 7 p. 1000, est transporté dans une solution de NaCl à 1 p. 1000 contenant 3 p. 1000 d'alcool méthylique ou éthylique, ce muscle absorbe presque autant d'eau que dans une solution de NaCl à 1 p. 1000 sans addition d'alcool.

Un muscle, primitivement immergé dans NaCl à 7 p. 1000 et transporté dans une solution de NaCl de même concentration à laquelle on a ajouté 1 p. 1000 d'alcool méthylique ou éthylique ne change pas de poids d'une façon sensible. Il ne subit donc pas de soustraction d'eau, et cela, pendant la longue période de survie que présente le muscle dans cette dernière solution (de 24 à 50 heures). Or une telle solution est isotonique à une solution de NaCl à 52 p. 1000 ; mais l'invariabilité de poids tient à ce que l'alcool entre presque instantanément dans le muscle.

Quand un muscle, primitivement immergé dans une solution de NaCl à 7 p. 1000 est transporté dans une solution de NaCl à 2 p. 1000 contenant également 2 ou 3 p. 1000 d'alcool méthylique ou éthylique, la rigidité aqueuse (wasserstarre) survient presque aussi vite que dans une solution de NaCl à 2 p. 1000 sans addition d'aucun alcool.

Tous ces faits ne peuvent s'expliquer que par l'hypothèse suivante : à savoir que les fibres musculaires vivantes sont extrêmement perméables aux molécules alcooliques en solution ; et ceci peut être confirmé par la détermination du contenu en alcool d'un muscle ayant séjourné dans une solution de NaCl à 7 p. 1000 contenant une certaine quantité d'un alcool non toxique.

13. — Tous les alcools univalents pénètrent dans la fibre musculaire aussi vite que les alcools méthylique et éthylique. Les alcools à poids moléculaires supérieurs pénètrent même plus vite encore.

14. — Il en est de même pour les hydrocarbures, les nitriles, les acides gras, l'uréthane.

15. — Les muscles sont un peu moins perméables aux alcools bivalents non substitués. Ceci peut être vérifié par l'expérience suivante :

Quand un muscle immergé dans une solution de NaCl à 7 pour 1000 est transporté dans une solution de même concentration mais à laquelle on a ajouté 1 p. 100 d'éthylène ou de butylène, on constate qu'il se produit une diminution de poids passagère du muscle. De même quand on retire un muscle d'une solution de NaCl à 7 p. 1000, et qu'on le transporte dans une solution de NaCl à 2 p. 1000 à laquelle on ajoute 1 : 100 de glycol, la raideur aqueuse se produit plus tard que si on transporte le muscle dans une solution de NaCl à 2 : 1000 sans addition de glycol. Enfin un muscle primitivement immergé dans une solution de NaCl à 7 : 1000 absorbe de l'eau avec infiniment plus de lenteur si on le transporte dans une solution de NaCl à 4 : 1000 + 1 ou 2 : 100 d'un alcool bivalent, que si on le transporte dans une solution de NaCl à 4 : 1000 sans addition d'alcool.

Un gastrocnémien immergé dans une solution de NaCl à 3,5 : 1000 contenant 3 : 1000 de glycol (et isotonique, par conséquent, à une solution de NaCl à 20 : 1000) perd d'abord de son poids pour, ensuite, augmenter de poids de façon, non seulement à récupérer son poids initial, mais à le dépasser.

L'explication de ce fait est la suivante. Le glycol ne traverse pas la membrane plasmique très vite, c'est pourquoi, au début, la solution agit comme une solution hypertonique, c'est-à-dire comme si la membrane était imperméable aux corps dissous. Mais plus tard, le glycol finit par pénétrer dans le muscle et la solution agit de plus en plus comme une solution pure de NaCl à 3,5 : 1000 (4).

Beaucoup de dérivés d'alcools bivalents comme, par exemple, le méthylal, l'acétal, pénètrent dans les fibres musculaires tout aussi vite que les composés indiqués au § 14.

(1) Nos expériences nous ont montré que des muscles et des encéphales immergés dans des solutions pures de NaCl , KCl ou CaCl_2 à concentrations élevées agissaient comme la solution NaCl -glycol dont Overton vient de parler. L'explication de cet auteur est donc manifestement insuffisante pour expliquer le phénomène en question.

16. — Les alcools tri- et tétravalents pénètrent plus lentement que les alcools bivalents. Beaucoup de leurs dérivés, par contre, diffusent rapidement dans le muscle. Il en est ainsi de la monochlorhydrine et de la monacétine, de la glycérine, etc...

17. — Les amides des acides monovalents pénètrent à peu près aussi vite dans les fibres musculaires que les alcools bivalents ; et parmi ces amides, ceux qui contiennent un plus grand nombre d'atomes de carbone pénètrent plus vite que ceux dont le nombre d'atomes de carbone est inférieur.

18. — L'urée et la thionurée diffusent plus difficilement que la glycérine dans les fibres musculaires, mais leur diffusion est plus facile que celle de l'Erythrite.

19. — Les fibres musculaires sont peu ou pas perméables aux acides aminés.

20. — Pour les alcools penta- et hexavalents (quercite, Inosite) ; pour les hexoses et les disaccharoses, de même que pour les glycosides, les muscles vivants ne sont guère perméables. Ainsi dans une solution de NaCl à 2,5 : 1000 contenant du sucre de raisin de façon à ce que le mélange soit isotonique à une solution de NaCl à 7,7 : 1000 (c'est-à-dire légèrement hypertonique), dans un tel mélange, un sartorius de grenouille perd du poids. C'est la preuve que le sucre de raisin ne pénètre pas dans le muscle. Il n'est cependant pas impossible qu'une certaine quantité de sucre de raisin pénètre sous cette forme dans les fibres musculaires ; mais si c'est le cas, il doit arriver, dès que la concentration du sucre de raisin a atteint une certaine valeur (d'ailleurs très petite) que, par un mécanisme quelconque, la pénétration d'une plus grande quantité de sucre soit complètement, ou presque complètement arrêtée, et cela alors même que la concentration du sucre de raisin serait 20 ou 30 fois plus élevée dans la lymphe qui baigne les fibres musculaires. Si, par conséquent, du sucre de raisin pénètre comme tel dans les fibres musculaires, il faut que le mécanisme de pénétration soit absolument différent de celui qui préside au passage des corps mentionnés dans les paragraphes 12 à 18 puisque ces corps pénètrent dans les fibres musculaires en quantité pro-

portionnelle à leur concentration dans le liquide qui baigne les fibres musculaires.

21. — La plupart des composés aromatiques et hétérocycliques sont trop toxiques pour pouvoir être directement employés. Cependant le muscle sain est très perméable au phénol, à l'aniline, à l'acétaniline, etc...

22. — Pour les colorants basiques, les fibres vivantes sont très perméables ; pour les colorants sulfo-acides les muscles sont perméables.

23. — A 20° centigr., l'urée et la glycérine pénètrent dans le muscle une fois et demie plus vite qu'à 1/2° centig.

24. — Parmi les substances inorganiques, l'acide carbonique libre en solution pénètre faiblement dans les fibres musculaires. L'acide borique pénètre à peu près aussi vite que les alcools univalents....

Dans une publication ultérieure(1), Overton résume ses recherches sur la perméabilité des fibres musculaires aux sels de potassium et aux sels alcalino-terreux. Voici quelles sont ses conclusions.

A. — Dans des solutions de KCl isotoniques au sang, les muscles minces (*sartorius*) perdent au bout de quelques minutes leur excitabilité, et meurent rapidement. Pendant et après leur mort, les muscles augmentent considérablement de poids. La raison de ce fait est que les fibres musculaires deviennent, après leur mort, perméables au KCl et qu'elles absorbent ce sel plus vite qu'elles n'éliminent leurs constituants solubles. Il s'établit ainsi un courant d'eau de dehors en dedans.

Si on expérimente sur un muscle plus épais que le *sartorius*, on note qu'il s'écoule un temps plus long avant que le muscle perde son excitabilité.

B. — Dans des solutions contenant un mélange de $NaCl$ et de KCl dans des proportions telles que le mélange soit isotonique à une solution de $NaCl$ à 7 : 1000, les muscles se montrent imperméables, ou du moins, peu perméables au KCl tant qu'ils n'ont pas subi de lésions graves.

(1) Overton. *Pflug. Arch.* 105, 176 ; 1904.

C. — Dans une solution de tartrate de potassium à 20 : 1000 ou de phosphate de potasse à 13 : 1000, un sartorius garde pendant très longtemps, quelquefois pendant 50 heures, le même poids qu'il avait dans une solution de sucre de canne isotonique. Pendant tout le temps de son immersion il est paralysé ; mais il récupère sa contractilité dès qu'on le met dans une solution de Ringer.

La constance de poids serait inexplicable si la membrane était perméable aux sels. Si cette perméabilité avait lieu même dans de faibles proportions, le muscle devrait sans cesse augmenter de poids. De plus, on ne pourrait s'expliquer que peu après son immersion dans la solution de Ringer, le muscle récupère sa contractilité, si la paralysie était la conséquence de la pénétration de sels à l'intérieur du muscle. Overton en conclut que les muscles sont imperméables aux sels organisés.

D. — Les autres sels, haloïdes de K et le nitrate de K se comportent sous ce rapport comme KCl.

E. — La perte de poids que subissent les muscles quand ils sont transportés d'une solution de NaCl à 6 ou 7 : 1000 dans une solution isotonique de CaCl_2 , provient très probablement de ce que pendant que du CaCl_2 pénètre dans les fibres musculaires mortes ou mourantes, il se forme un précipité de phosphate de calcium. Il n'est pas improbable non plus que les protéïdes des fibres mortes soient, en présence de sels de calcium, moins sujettes à se gonfler qu'en la seule présence de sels alcalins (1).

En résumé, Overton arrive à cette conclusion : que des cellules végétales et des cellules animales (et notamment les cellules musculaires) sont soumises aux mêmes lois de perméabilité. Pour les unes comme pour les autres il faut admettre la « nature lipoïde » de leurs membranes.

Recherches de Fletcher. — En 1904 Fletcher (2) avait déjà élevé des objections au sujet du travail d'Overton. Il fit aux travaux de cet auteur les mêmes reproches que celui-ci

(1) C'est ce que confirme toutes nos expériences ; mais la question est d'expliquer pourquoi.

H. W.

(2) Fletcher. *Journal of physiolog.* 30, 414 ; 1904.

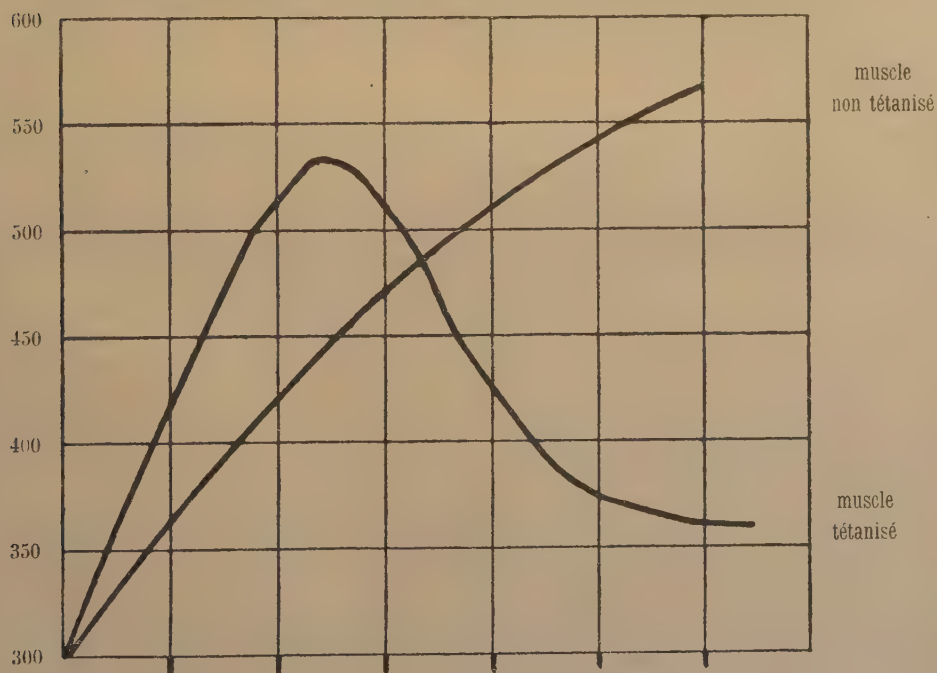
avait faits aux expériences de J. Loeb et de Mlle Cook et objecta à Overton que ses expériences sur l'imbibition n'avaient pas duré assez longtemps.

Fletcher reprit la question et fit une série d'expériences comparatives sur les propriétés osmotiques des muscles de grenouille au repos, après avoir été fatigués, et à l'état de rigidité cadavérique. Voici les résultats de ses observations.

En opérant sur des gastrocnémiens reposés, et imbibés dans des solutions hypotoniques de NaCl , il constata, dans une première série d'expériences, que les muscles augmentaient petit à petit de poids pour atteindre un maximum après 6 à 7 heures d'immersion. A partir de ce temps, les muscles perdaient de leur poids (probablement, dit Fletcher, par suite de modifications survenues dans leur perméabilité).

Dans une seconde série d'expériences, il constata les curieux résultats suivants.

Si on immerge dans une même solution hypotonique de NaCl deux muscles gastrocnémiens, dont l'un a été tétanisé



à l'aide de strychnine ou d'un courant électrique, et dont l'autre n'a pas subi cette tétanisation, on note que le muscle tétanisé augmente plus vite de poids que le muscle non tétanisé, et cela pendant les deux premières heures. Mais le muscle tétanisé entre bientôt dans une deuxième phase, caractérisée par un phénomène inverse ; c'est-à-dire par une diminution de poids. Au contraire, le muscle non tétanisé augmente lentement de poids jusqu'à la 6^e heure. Il résulte de là qu'en comparant les graphiques établis par l'inscription des pesées successives et effectuées sur ces deux muscles, on constate que les deux courbes se coupent comme l'indique la figure ci-dessus.

Mais, fait singulier, ce comportement ne s'observe que sur le muscle *gastrocnémien*. En opérant sur des sartorius, Fletcher constata non seulement que les résultats étaient différents de ceux obtenus avec des gastrocnémiens, mais encore que ces résultats variaient entre eux selon qu'il opérait sur des grenouilles de printemps ou des grenouilles d'automne. Ainsi pour des sartorius de grenouilles d'automne, le graphique figuré plus haut se trouve à peine ébauché. En comparant des sartorius de grenouilles de printemps, on constate que le muscle *tétanisé* augmente *moins vite* au début que le muscle au repos ; et les deux muscles entrent rapidement dans la *seconde phase* de diminution de poids.

D'après Fletcher, les conditions de perméabilité de la membrane se trouvent modifiées bien avant que le muscle n'atteigne son maximum de poids ; c'est ce qui expliquerait, selon cet auteur, que dans des solutions salines hypotoniques, l'augmentation de poids est plus grande alors que dans des solutions hypertoniques, la diminution de poids est plus petite que ne le faisait prévoir la pression osmotique de ces différentes solutions. Cette hypothèse expliquerait mieux les faits (d'après Fletcher) que la dissociation moléculaire de la substance musculaire invoquée par J. Lœb et Mlle Cook.

Fletcher constata encore qu'un muscle préalablement soumis au tétanos jusqu'à épuisement, puis sectionné et exposé longtemps à un courant d'oxygène se laisse imbiber de nouveau comme un muscle non tétanisé. Qu'un muscle ait été préalablement tétanisé ou non, a rigidité cadavérique, com-

me celle produite par la chaleur le rend complètement imperméable à l'eau. Par contre un muscle soumis à une température de 80° se laisse légèrement imbiber par l'eau ; mais après les deux premières heures, cette faculté d'imbibition disparaît (probablement par suite de la coagulation des substances albuminoïdes).

Recherches de Edw. B. Meigs. — En 1910 (1) E. B. Meigs étudia d'une façon particulièrement précise les changements de poids et de longueur subis par des muscles striés immergés dans l'eau distillée. Voici quels sont les résultats de ses recherches. Quand on immerge un muscle dans de l'eau distillée, il augmente d'abord de poids, puis, dans une seconde phase, il diminue de poids, et enfin dans une troisième phase, il en regagne à nouveau.

Le muscle immergé perd rapidement son excitabilité. Il semble que le début de son inexcitabilité coïncide avec celui de la seconde phase, c'est-à-dire avec le début de la diminution de poids.

On sait que, d'après Overton (2), les fibrilles musculaires sont entourées dans le muscle vivant par une membrane perméable à l'eau et à de nombreuses substances organiques, mais imperméables aux sels et aux sucres. Ces membranes osmotiques sont facilement détruites par les acides. Or, il résulte des recherches d'Overton que la destruction de ces membranes priverait le muscle de son excitabilité. Le maintien de cette dernière propriété aurait pour condition l'intégrité des membranes semi-perméables qui entourent les fibrilles musculaires et qui forment ainsi une cloison séparatrice entre ces fibres et les sels qu'elles contiennent, d'un côté — et le sang avec ses sels de l'autre côté. Ceci dit, il est probable que la première diminution de poids et la perte de l'excitabilité qui coïncide avec elle, sont dues à la disparition des propriétés de semi-perméabilité de la membrane d'Overton. Ce dernier auteur fait remarquer que les membranes semi-perméables n'existeraient que sur le muscle *vivant*, et que le muscle *mort* pourrait bien s'imbiber par

(1) Edward B. Meigs, *journal of physiol.* 26, 191 ; 1910.

(2) Overton. *Arch. für gesammte Physiolog.* 1904.

un processus tout différent de celui auquel on donne le nom d'osmose (1). Overton a observé en outre des gonflements qui peuvent se produire sur les muscles immergés dans des solutions très concentrées et qui seraient dus à la formation d'acides qui donneraient aux muscles la propriété de se gonfler même dans des solutions hypertoniques. Cette action des acides et des bases sur le gonflement musculaire a été étudiée par Fischer ; mais d'après Meigs, il est certain que Fischer opérait souvent sur des muscles morts, et alors, ces derniers se comportent comme une masse de gélatine.

Les différences entre les propriétés osmotiques des muscles vivants et des muscles morts ont été mises en relief par les expériences suivantes de Meigs.

Un sartorius de grenouille est immergé pendant une demi-heure dans de l'eau distillée ; à la fin de ce temps, il s'est considérablement raccourci, gonflé, et acidifié. Son excitabilité a complètement disparu, et les membranes osmotiques entourant les fibres musculaires sont rompues. Ce muscle est maintenant immergé pendant plusieurs heures dans une solution de Ringer. Après cette immersion, il aura regagné son poids primitif, sa longueur et sa réaction, mais restera complètement inexcitable aux courants électriques. Un tel muscle est cependant capable encore de reprendre du poids et de se raccourcir si on l'immerge à nouveau dans l'eau distillée. Mais la dernière courbe d'augmentation de poids d'un muscle traité de cette façon est tout à fait différente de celle qu'on obtient quand on immerge *pour la première fois* un muscle frais dans l'eau distillée. En effet :

1° Un *muscle frais* prend beaucoup d'eau dans les cinq premières minutes, moins dans les cinq minutes qui suivent, etc., de sorte que la vitesse d'augmentation de poids dans l'unité de temps *t diminue* à mesure que la durée totale de l'expérience *T* augmente.

Au contraire, le muscle mort prend de l'eau de plus en plus rapidement de la *première à la quinzième minute*.

Pendant ces quinze minutes, l'augmentation de poids dans l'unité de temps *t* augmente avec le temps total *T*.

(1) Voyez pages 238 et suivantes.

2° La température exerce une influence différente sur un muscle frais et sur un muscle mort.

α) SUR UN MUSCLE FRAIS,

L'augmentation de poids est moindre à 0° qu'à 20° ; par conséquent l'augmentation de la température favorise l'absorption d'eau ; *mais seulement pendant les cinq premières minutes.*

A partir de la cinquième minute, l'augmentation de poids est toujours plus rapide à *basse température* qu'à température élevée.

β) SUR UN MUSCLE MORT,

L'élévation de température favorise l'absorption d'eau pendant les *20 premières minutes.*

D'après Meigs, les effets de la température sur le gonflement du muscle frais dans l'eau distillée sont facilement explicables, si on admet que le gonflement du muscle est fonction d'une membrane semi-perméable entourant les fibres musculaires. Meigs rappelle, en effet, qu'un muscle plongé dans l'eau distillée produit de l'acide, et qu'il est facile de démontrer que l'acidification s'accélère quand la température augmente (1). Si maintenant on rapproche ces deux remarques des deux faits suivants déjà connus : à savoir :

1° que la formation d'acide favorise le gonflement musculaire, et

2° que les acides détruisent la semi-perméabilité de la membrane d'Overton, on s'expliquera facilement l'influence de l'élévation de température sur les variations de poids d'un muscle frais immergé dans l'eau distillée.

En effet, pendant les cinq premières minutes, le muscle se gonfle plus rapidement dans l'eau à 20° qu'à 0° parce qu'il s'acidifie davantage à haute température, et que cette acidification produit une diffusion plus rapide de l'eau vers l'intérieur des fibres musculaires ; mais à la fin de ces cinq minutes, l'acide a déjà commencé à détruire les membranes

(1) Pour établir cela, Meigs prend deux sartorius provenant d'un même animal. L'un est immergé dans de l'eau distillée à 22° pendant 15 minutes ; l'autre est immergé dans de l'eau distillée à 0° pendant 30 minutes. A la fin de l'expérience, l'acidité du premier sartorius est plus grande que celle du second.

semi-perméables des fibres les plus superficielles. Ces dernières commencent à perdre du liquide et cette perte d'eau venant en diminution de la quantité d'eau allant de dehors en dedans, le gain en poids se ralentit à partir de ce moment.

Si maintenant, on immerge un muscle dans de l'eau distillée à 0°, la production d'acide est bien moindre, la destruction des fibres musculaires est beaucoup plus lente ; il n'y a donc pas de perte d'eau par les fibres les plus extérieures, tandis que l'absorption d'eau n'est pas diminuée. Les fibres se gonflent toutes d'une façon uniforme pour arriver à un maximum de gonflement presque en même temps.

Dans un muscle *mort*, le processus par lequel l'eau est absorbée est probablement très différent. La différence entre le gonflement subi par un muscle mort et par un muscle vivant peut être mise en lumière en employant comme liquide à immersion une solution de sucre de canne un peu hypertonique à une solution de NaCl à 7 : 1.000. Dans une solution de ce genre, un muscle vivant maintient son poids originel pendant longtemps (Overton), tandis qu'un muscle, préalablement traité par l'eau distillée et la solution de Ringer, gonfle très rapidement.

Fischer avait déjà montré qu'un muscle mort tend à se gonfler dans l'eau distillée additionnée d'une trace d'acide faible ou d'alcali, et à perdre de l'eau dans une solution de sel neutre. Les recherches de Meigs ont confirmé celles de Fischer.

En somme, les fibres musculaires pourraient subir deux sortes de gonflement.

Le premier mode d'absorption d'eau serait fonction de la membrane semi-perméable d'Overton : ce genre de gonflement est celui du muscle *frais* et suit, en grande partie, les lois physiques de l'osmose.

Le second mode de gonflement est indépendant de la membrane d'Overton, et est analogue au gonflement de la fibrine, de la gélatine, etc.

Meigs résume ses recherches de la façon suivante. Les fibres d'un sartorius immergé dans de l'eau à 20° prennent de l'eau rapidement par un processus purement physique pendant une période de 20 minutes. Il y a production d'acide lactique dans les fibres immergés, et cette production com-

mence moins de cinq minutes après le début de l'expérience.

La présence d'acide lactique a pour conséquences :

✓ 1° de favoriser l'absorption d'eau de la part des sarcostyles ; puis

2° de détruire l'excitabilité du muscle ainsi que sa membrane semi-perméable.

Par suite de la destruction de cette dernière, il y a sortie d'eau hors du muscle. Mais l'absorption d'eau par les sarcostyles n'est cependant pas empêchée ; il y a donc à la fois entrée et sortie d'eau. La sortie d'eau vers l'extérieur se poursuit environ pendant 2 heures. Après ces deux heures, il n'y a plus de liquide qui abandonne le muscle. Mais dans cette période, comme dans la précédente, les sarcostyles continuent à absorber de l'eau ; le muscle recommence à gagner du poids pendant une période variant de 2 à 4 heures.

Pendant la durée des différentes phases de l'expérience, l'acide lactique formé dans le muscle s'est échappé très rapidement hors de ce dernier. Meigs s'en est assuré par « l'épreuve du triophène ». D'ailleurs, cette production d'acide lactique diminue graduellement et finit par s'arrêter complètement. Mais dans le cours de l'expérience, il y a un moment où la quantité d'acide formé est plus petite que la quantité qui fuse hors du muscle. Dès que ce moment est atteint, la réaction acide diminue, en même temps que le pouvoir des sarcostyles d'absorber et de retenir de l'eau. C'est probablement ce qui explique la très lente perte de poids qui se produit de la 5^e et 6^e heure de l'expérience.

Recherches de Henri Laugier et Henri Bénard sur les propriétés osmotiques des muscles. - En 1911 H. Laugier et H. Bénard (1) étudièrent à leur tour « les propriétés osmotiques des muscles ». Ces auteurs avaient été frappés de ce que la plupart des physiologistes qui avaient étudié la question (J. Lœb, Mlle Cook, Overton, Fletcher) « avaient conservé comme base primordiale à leurs explications la conception de Lœb qui considère le muscle comme formé d'un

(1) Henri Laugier et Henri Bénard. Contributions à l'étude des propriétés osmotiques des muscles. Journal de physiologie et de pathologie générale. Masson. 1911. N° 33.

sac contenant une solution aqueuse, et dont la membrane jouirait de la propriété d'*hémiperméabilité* (1). Malgré une modification importante apportée par Overton (2), on n'est pas parvenu à donner des faits que l'on observe dans l'imbibition en solutions hypotoniques une explication définitive. Il suffit pour s'en rendre compte de lire l'excellent travail de Fletcher (3). Des faits y sont observés avec une minutieuse précision, mais les hypothèses théoriques faites pour les expliquer conservent un caractère d'incertitude manifeste et peuvent parfois être soumises à une critique expérimentale qui les infirme. »

En effet, nous avons vu plus haut (page 60) que Fletcher avait montré d'une façon indiscutable qu'un muscle immergé dans une solution hypotonique augmente de poids jusqu'à un maximum, et que ce maximum est toujours suivi d'une diminution de poids continue. Or, Fletcher, le seul auteur (avant H. Laugier et H. Bénard) qui ait tenté d'expliquer cette diminution de poids, en donne l'explication suivante : « *Le muscle, mécaniquement distendu par l'entrée considérable d'eau, perdrait son hémiperméabilité.* » La pensée de Fletcher est que dans cette période de descente, le muscle a perdu ses *propriétés osmotiques* par distension mécanique, affaiblissement et, somme toute, lésion de sa membrane limitante.

« Or, des faits expérimentaux contredisent cette explication :

a) Pendant la période de descente de la courbe, le muscle n'a pas perdu ses propriétés osmotiques ; il est facile de les mettre en évidence, en immergeant, par exemple, le muscle à cette période dans une solution moins concentrée. Si comme le propose Fletcher, la membrane distendue, lésée, ayant perdu ses propriétés osmotiques laissait simplement diffuser son contenu dans la solution extérieure, l'immersion dans une solution plus hypotonique devrait accélérer le phénomène de descente. Bien au contraire, le muscle manifeste ses qualités osmotiques conservées en s'imbibant à nouveau.

(1) Voyez pages 226 et suiv.

(2) Voyez page 232.

(3) Voyez page 232.

b) D'après l'hypothèse de Fletcher, on devrait observer une diffusion considérable des sels vers la solution ; mais cette diffusion qui correspondait à la perte de l'hémi-perméabilité de la membrane ne devrait commencer à se produire qu'en même temps que la diminution de poids elle-même commence à se manifester. Or, l'expérience montre, au contraire, qu'on observe une diffusion de sel allant du muscle à la solution immédiatement après l'immersion du muscle dans la solution, c'est-à-dire déjà pendant la période d'augmentation de poids ; l'intensité de cette diffusion va en décroissant à mesure que l'expérience se poursuit. Il diffuse donc moins de sel au moment où commence la descente de la courbe qu'il en diffusait pendant la phase ascendante.

« On voit que l'hypothèse de Fletcher est manifestement insuffisante à expliquer les faits observés. » (Laugier et Bénard).

Voici, par contre, le schéma physique du muscle tel que l'ont tracé les auteurs dont nous analysons le mémoire.

« 1° *Le muscle peut être considéré comme un sac limité par une membrane non pas semi-perméable, mais jouissant au contraire d'une perméabilité très notable aux corps dissous dans le suc cellulaire.....* Il est de toute évidence que pour pouvoir puiser dans les sucs environnants les substances nécessaires à sa vie et à son activité fonctionnelles, la cellule doit posséder une perméabilité au moins partielle à ses substances ; et il apparaît que tenter d'expliquer l'attitude osmotique d'un muscle à l'égard de solutions de concentrations diverses, par les simples lois qui régissent l'osmose à travers les membranes semi-perméables (c'est-à-dire perméables à l'eau et imperméables aux corps dissous) serait s'engager dans une voie décevante... La nature réalise des expériences de Dutrochet et non des expériences de Pfeffer. »

« 2° *La membrane limitante est une membrane jouissant d'une élasticité notable, et il faut en tenir compte dans l'étude quantitative de l'imbibition.*

« Le rôle de la membrane est donc double :

a) elle permet certains échanges suivant des lois à déterminer.

b) elle joue un rôle de réservoir élastique dont la tension, réagissant sur le contenu, peut dans une mesure importante, équilibrer des courants endosmotiques, résultats de différences de concentrations moléculaires de part et d'autre de la membrane elle-même. »

H. Laugier et H. Bénard font encore remarquer que dans le cas où un muscle est plongé dans l'eau distillée, la mise en tension de la membrane (abstraction faite de la perméabilité de cette membrane aux corps dissous et de la diffusion vers l'eau qui en résulte) est le seul phénomène qui puisse expliquer que l'endosmose ne continue pas indéfiniment. « En somme, si nous voulons dissocier les fonctions de cette membrane, nous pouvons nous représenter le muscle par un schéma ainsi constitué : *une cellule osmotique fermée d'un côté par une membrane très notablement perméable aux corps dissous et rigide, et de l'autre, par une membrane imperméable et élastique.* »

Ceci posé, voyons comment nous pouvons expliquer les phénomènes décrits par Fletcher.

« Le muscle étant plongé dans l'eau distillée (hypotonie extrême) ou dans des solutions de NaCl hypotoniques, sa membrane est le siège d'un courant double : 1° du fait de l'hémiperméabilité partielle, un courant d'eau s'établit de l'extérieur vers l'intérieur ; 2° du fait de la perméabilité partielle, une diffusion s'établit de l'intérieur vers l'extérieur. « Ces deux phénomènes concourent à diminuer la concentration intra-musculaire. Quant au courant endosmotique, il met en tension la membrane limitante *élastique* : on atteindra un maximum au temps t quand la réaction élastique de la membrane équilibrera la force du courant endosmotique que déterminerait la différence entre la concentration moléculaire ct et la concentration extérieure. A ce moment le courant endosmotique s'arrête, mais la diosmose, la diffusion n'a aucune raison de s'arrêter. Dès lors le « potentiel tonique » contenu à l'intérieur du muscle, diminuant, la pression interne diminue, n'est plus capable d'équilibrer la tension de la membrane limitante ; et à travers cette membrane le mouvement diosmotique diminue, la sortie de chaque molécule de sel ayant pour conséquence la sortie d'un certain nombre de molécules d'eau.

« Ainsi s'expliquent bien :

« a) la forme de la courbe de Fletcher : ce n'est autre chose que le graphique d'une expérience de Dutrochet, où la pression due à la tension de la membrane remplace la surpression créée par la dénivellation d'origine endosmotique ;

« b) le fait que lorsqu'un muscle arrivé dans une solution donnée, à la période de descente est immergé dans une solution moins concentrée, il s'imbibe à nouveau ;

« c) la courbe d'élimination des électrolytes. »

On sait, d'autre part, que Fletcher avait mis en évidence le fait suivant : « Quel que soit le degré d'hypotonie de la solution où l'on immerge le muscle, la courbe d'imbibition est toujours une courbe du même ordre, comportant trois phases (augmentation de poids, maximum, perte de poids) ; toutefois, la perte de poids commence d'autant plus tôt, et va d'autant plus vite que l'on opère sur des solutions hypotoniques.....

« Fletcher explique cette chute plus rapide dans les solutions d'hypotonie plus forte, par une distension plus rapide de la membrane limitante entraînant une perte plus précoce des propriétés osmotiques du muscle.....

« Or, bien que la chute se produise plus tôt dans une solution à 2 : 1000 que dans une solution à 4 : 1000 par exemple, néanmoins l'augmentation du poids du muscle est considérablement plus grande dans la solution à 2 : 1000 que dans la solution à 4 : 1000 ; par suite, l'augmentation de volume et la *distension de la membrane* sont beaucoup plus fortes, quand la chute commence dans la solution à 2 : 1000 que lorsqu'elle commence dans la solution à 4 : 1000. Il suit bien de là que ni la chute, ni le moment où elle débute ne sont conditionnés par la *distension de la membrane*. » (page 502).

H. Laugier et H. Bénard croient que leur hypothèse explique ces faits.

« En effet, disent-ils, quand la différence de concentration entre le muscle et la solution devient plus forte : 1° la rapidité du mouvement endosmotique, fonction de cette différence, augmente (d'où ascension plus rapide de la courbe) ;

2° le mouvement de diffusion des sels accompagné de sortie d'eau (fonction de la chute de la différence entre la concentration du muscle et celle de la solution) augmente de même (d'où chute plus rapide de la courbe) ; 3° de l'action combinée de ces deux facteurs résulte un maximum plus précoce ; 4° la quantité de liquide endosmosé augmente (fonction complexe, ici, de la différence des pressions osmotiques), d'où maximum plus élevé. »

Enfin H. Laugier et H. Bénard voient encore leur théorie confirmée par l'expérience suivante :

S'il est vrai, comme le prétendent ces auteurs, que le maximum de poids se produit quand la réaction élastique de la membrane fait équilibre à la force endosmotique résultant elle-même de la différence entre les concentrations moléculaires interne et externe, on conçoit que si on augmente la tension initiale de la membrane limitante, le moment où sa réaction élastique équilibrera la force endosmotique se produira plus tôt : c'est ce que l'expérience vérifie.

Si on immerge un gastrocnémien de grenouille dans de l'eau distillée en *suspendant au muscle un poids notable pendant qu'il s'imbibe*, la traction qu'exerce le poids augmente la tension initiale de la membrane limitante ; il en résulte que la courbe d'imbibition est modifiée. Le maximum se produit plus tôt, et affecte une valeur plus faible que chez le muscle témoin.

Influence de la température.

L'élévation de température modifie la courbe d'imbibition dans les solutions hypotoniques ; à *température élevée*, on observe ce qui suit :

1° L'augmentation de poids est plus rapide au début.

L'élévation de température diminuant la viscosité de l'eau distillée, l'endosmose sur qui la viscosité agit comme résistance sera plus rapide à température élevée qu'à température basse.

2° Le maximum, plus précoce, se produit à un niveau notablement plus bas.

En effet, la température augmentant les coefficients de diffusion dans des proportions considérables (environ 2 : 100

par degré), elle accélère, par ce fait, la diffusion des corps dissous à travers la membrane supposée douée d'une perméabilité partielle. « Ce facteur suffit à expliquer la rapidité plus grande de la décroissance de la courbe à température élevée, et explique, au moins partiellement, que le maximum y soit moins élevé. »

3° *La perte de poids commence plus tôt.*

« La précocité du maximum s'explique fort bien par l'effet convergent des deux facteurs précédents. »

Après avoir exposé leurs recherches, H. Laugier et H. Bénard terminent leur mémoire par les considérations suivantes qui nous ont paru tout à fait dignes de remarque. Pour ces auteurs, la perméabilité de la membrane aux corps dissous (perméabilité vérifiée par l'expérience) n'est pas déterminée une fois pour toutes, mais elle est réglée par un mécanisme physico-chimique susceptible de varier suivant les différents moments de la vie de la cellule, suivant les différentes phases de son activité fonctionnelle.

« Cette conception plus souple doit se substituer à celle de la membrane semi-perméable, encore classique, mais beaucoup moins apte à rendre compte de la complexité des fonctions cellulaires.

« Au reste, les faits actuellement connus nous inclinent à penser que cette perméabilité variable *n'est pas due à une disposition structurale de la membrane* (1). A cet égard nous apparaissent comme assez convaincants les faits rapportés par nous sur la modification de la perméabilité par la température ; ceux rapportés par Girard (2) qui, faisant varier le plan de polarisation dont une membrane inerte peut être le siège, modifie sa perméabilité aux électrolytes ; ceux rapportés par Galeotti (3) qui, ayant modifié la perméabilité des membranes par des anesthésiques (chloroforme, éther), déclare formellement ne pas avoir réussi à décélérer la moindre altération histologique correspondante.

« Bien plus, des travaux actuellement en cours nous ont montré qu'il faut spécifier, et ce qui est vrai pour la cellule

(1) C'est nous qui soulignons.

(2) Voir pages 42 et 94.

(3) Galeotti Zeitschrift für Physik. Chemie. 40, 480 ; 1902.

musculaire ne l'est pas de droit et de fait pour la cellule nerveuse, la cellule du foie, les cellules du rein. Si le mécanisme de leur perméabilité reste encore vraisemblablement le même, il comporte des modalités qui rendent profondément différentes au point de vue de leurs propriétés osmotiques ces différentes cellules. *On voit quel intérêt il y aurait à fixer les conditions qui règlent cette perméabilité différente pour chaque espèce de cellule ; l'ensemble de ces conditions constitue évidemment le déterminisme qui règle les échanges entre une cellule et son milieu et tous ces phénomènes de sélection, c'est-à-dire de perméabilité élective qu'on a longtemps attribués à une activité vitale propre des tissus.*

« Deux faits semblent donc démontrés :

1° La tension élastique de la membrane cellulaire joue un rôle considérable dans la limitation des phénomènes osmotiques.

2° La membrane à travers laquelle les échanges se font ne doit pas être considérée comme semi-perméable mais comme apportant simplement selon l'expression de P. Girard une perturbation aux lois habituelles de la diffusion. »

Recherches de Meigs sur l'imbibition des muscles lisses (1). — Nous venons de voir à l'instant que H. Laugier et H. Bénard prévoient « une perméabilité différente pour chaque espèce de cellule ». L'expérience a confirmé cette hypothèse non seulement pour les cellules des différents organes, mais encore pour les modalités d'un même tissu : le tissu musculaire.

Meigs a noté que les propriétés osmotiques de ce tissu étaient différentes selon que l'on expérimentait sur le muscle strié, le muscle lisse ou le muscle adducteur des pinces. Loeb objecta aux expériences de Meigs que les différences observées tenaient à ce que la préparation des fibres lisses de l'estomac ne pouvait pas se faire sans lésions, et que les expériences étaient faites par Meigs sur des tissus anormaux.

(1) Meigs, *journal of experimental Zoology* 13, 497 ; 1913. — *Journal of biological chemistry* 17, 81 ; 1914.

Meigs a réfuté les objections de Lœb dans un récent article (1) où il fait les remarques suivantes :

Quand on sectionne un *muscle strié*, on constate au voisinage de la section de la rigidité musculaire accompagnée de formation d'acide, de gonflement, de perte d'excitabilité, et enfin de la perte de ses propriétés osmotiques. Ces phénomènes s'étendent petit à petit du point lésé aux autres parties du muscle.

Si on coupe transversalement un *muscle lisse*, on observe une contraction bientôt suivie de relâchement. Mais il n'y a pas de tendance à la formation d'acide, ni au gonflement, ni à la perte de l'excitabilité, pas plus au voisinage de la surface de section que dans n'importe quelle autre partie du muscle. « Ces faits qui sont ignorés de J. Lœb et de V. Korozy (2) sont très significatifs. Ils suggèrent immédiatement l'idée qui fut fortifiée par toutes mes expériences, à savoir : que les fibres du muscle strié sont entourées d'une couche semi-perméable, dont la blessure est suivie de changements profonds au sein du tissu musculaire ; et que cette couche semi-perméable fait défaut chez le muscle lisse. Ces faits sont incompatibles avec l'idée que les propriétés osmotiques sont les mêmes pour les différents tissus ; et, en somme, ils montrent que mes préparations de muscles lisses, en dépit de la section de leurs fibres, sont plus comparables à des préparations de muscles striés non lésés qu'à des fibres striées lésées. »

Meigs fait encore la remarque suivante. La rigidité et d'autres phénomènes anormaux qui se manifestent au voisinage de la surface de section d'un muscle strié ne s'étendent au reste du muscle que petit à petit. Par conséquent, si la surface blessée est relativement petite, la préparation réagira au point de vue osmotique, pendant la première heure, comme un muscle non lésé. D'autre part, un muscle sartorius étant coupé en deux parties égales, chacune d'elles contiendra la même proportion de « surface naturelle » et de « surface anormale » qu'une préparation de muscle d'estomac de grenouille dans les expériences de Meigs. On cons-

(1) Science, 7 mai 1915.

(2) Elève de J. Lœb qui soutient ses objections aux expériences de Meigs.

late qu'un sartorius sectionné comme il vient d'être dit réagit pendant la première heure comme un muscle sartorius non lésé. Or les particularités osmotiques si frappantes du muscle lisse se manifestent longtemps avant la fin de la première heure.

De plus, Meigs a étudié les effets des sections transversales faites sur les fibres d'un muscle lisse, en comparant les réactions offertes par des préparations de muscles lisses dans lesquelles on avait fait de nombreuses incisions avec celles offertes par des muscles lisses aussi peu coupés que possible. Ces expériences comparatives ont montré que, à l'exception de ce qui se passe dans les premières minutes, les incisions n'ont pas d'importance marquée sur les phénomènes observés.

Dans les premières minutes, les incisions ont pour effet d'amener une légère perte d'eau de la part du muscle. Les différences qui existent entre les phénomènes observés sur les muscles lisses et les muscles striés ne peuvent, en aucune façon, être le résultat des blessures dues à la préparation des muscles. Ainsi les fibres lisses gonflent plus rapidement que les fibres striées dans une solution de Ringer, mais moins rapidement qu'elles dans une solution de Ringer dont la concentration a été réduite de moitié. On ne saurait admettre que ces différences de comportement en présence des deux solutions de Ringer soient le résultat des lésions dues à la préparation des muscles.

Recherches de Siebeck sur l'imbibition des muscles de grenouille (1). — Des recherches antérieures sur le rein (et sur lesquelles nous reviendrons) avaient déjà montré à Siebeck que lorsque ces organes sont immergés dans une solution de KCl , ils absorbent de l'eau et du sel et que ce phénomène est réversible. Or ceci est en contradiction avec les idées d'Overton d'après lesquelles les sels neutres inorganiques ainsi que les substances peu ou pas solubles dans les lipoides ne pénétreraient pas dans les cellules vivantes (2). D'ailleurs Overton, dans ses expériences sur le sartorius de grenouille crut voir que lorsque ce muscle est im-

(1) R. Siebeck. *Pflug. Arch.* 150, 316 ; 1913.

(2) Voyez pages 54 et suivantes.

mergé dans des solutions salines, les sels ne le pénètrent qu'après sa mort; et jamais Overton n'a pu constater la réversibilité des phénomènes d'absorption. Or, les recherches de Siebeck sur les muscles de grenouille montrèrent que le tissu musculaire, comme le tissu rénal, absorbe de l'eau et des sels, et que pour le muscle comme pour le rein, ce phénomène est réversible. Voici d'ailleurs les conclusions de Siebeck :

1° Dans une solution de KCl isotonique et neutre, les muscles deviennent bientôt inexcitables et *augmentent de poids*, contrairement à ce qu'avait affirmé Overton (1). Ce phénomène est encore complètement réversible après plusieurs heures d'immersion et une augmentation de poids de 20 : 100.

2° Les muscles qui ont subi une altération de structure par congélation suivi de dégel n'augmentent pas de poids dans une solution neutre de KCl , mais ils gonflent quand la solution a été alcalinisée.

3° L'augmentation de poids, dans une solution de KCl , est plus rapide quand le muscle a été préalablement excité par un courant paradique.

4° Une acidification de la solution soit par l'acide carbonique soit par l'acide acétique n'a aucune influence sur l'augmentation de poids ni sur la réversibilité de ce phénomène, que l'immersion ait eu lieu dans une solution de KCl ou de Ringer.

5° Au contraire, lorsque la solution de KCl a été alcalinisée $\frac{1}{1.000}$ N ammoniacale) l'augmentation de poids du muscle est plus rapide.

6° A la suite de la narcosé, l'augmentation de poids du muscle immergé dans une solution de KCl a lieu avec une vitesse plus grande.

D'après les recherches de Siebeck, le KCl et l'eau pénètrent dans les fibres musculaires, comme dans les cellules

(1) Nos recherches nous ont amené aux mêmes conclusions que celles de Siebeck. Voir 2^e partie de ce mémoire, l'exposé de nos recherches.

du rein, par diffusion. « Il faut donc admettre que la couche limitante de la cellule, qui offre une certaine résistance à la diffusion de la plupart des sels, est cependant perméable au KCl contenu dans la solution de ce sel. Dans une solution de Ringer, la couche limitante, après avoir laissé diffuser les molécules de KCl récupérerait ses propriétés originales. Ces faits présentent un intérêt particulier par ce que Nernst, Bernstein, Höber et d'autres auteurs, semblent avoir montré que précisément la perméabilité de la membrane cellulaire au K joue un rôle important dans l'établissement des courants bioélectriques. »..... « Höber a tenté d'échafauder une théorie de la narcose en s'appuyant sur ses recherches touchant les courants de repos salins (Saltzruhestrome). Les modifications qu'apportent les narcotiques dans les courants de repos salins l'amènent à penser que la perméabilité momentanée de la membrane qui est liée au phénomène d'excitation, serait empêchée par la narcose. Mais mes recherches semblent plutôt montrer que la perméabilité de la membrane au K est favorisée par les narcotiques. » (Siebeck, loc. cit.).

Perméabilité de l'intestin. — L'expérience (1) a montré que l'épithélium de l'intestin était perméable aux substances solubles dans les lipoides ; la rapidité de la resorption des substances liposolubles semble être proportionnelle au coefficient de partage $\frac{\text{lipoïde.}}{\text{eau}}$.

Imbibition du tissu tendineux. — Zacchariadès (2) a fait une série de recherches intéressantes sur le gonflement des tendons dans l'eau distillée et sur l'influence exercée par les acides sur ce gonflement.

L'auteur prépare des solutions d'acide formique de concentrations décroissantes : 1 : 1.0000, 1 : 10.000, 1 : 50.000 etc., et note que le gonflement maximum d'un tendon de queue de rat est toujours le même, quelle que soit la solution ;

(1) Höber. Pflug. Arch. 74, 246 ; 1899 et Katzenellenbogen, Pfl. Arch. 114, 522 ; 1906.

(2) Zacchariadès. Recherches sur la structure du tissu conjonctif. Société de Biologie 182, février 1900.

mais que la vitesse d'imbibition est d'autant plus *petite* que la solution est diluée.

Toutefois, l'action des acides est déjà perceptible à de très faibles dilutions. Ainsi le gonflement du tendon est déjà sensible dans une solution d'acide formique à 1 : 700.000 ou 1 : 800.000. Dans une solution à 1 : 400.000, il est très prononcé ; dans une solution à 1 : 200.000, il est considérable.

L'acide acétique agit dans des proportions à peu près semblables. « Cette excessive sensibilité d'un tissu si peu fragile, cependant, et pour des doses pour ainsi dire homœopathiques est vraiment étonnante, et nous fait entrevoir celle que doivent posséder les éléments cellulaires. » (Zacchariadès).

L'acide formique a une action inhibitrice très grande. Nous venons de voir qu'un tendon gonfle d'une façon très sensible dans une solution de cet acide à 1 : 700.000 à 1 : 800.000.

L'acide lactique, au contraire, ne produit pas de gonflement au delà de 1 : 50.000.

L'acide azotique amène un gonflement instantané jusqu'à une dilution de 1 : 25.000. Toutefois Zacchariadès fait deux remarques importantes au sujet de l'action de cet acide.

1° C'est dans les solutions allant de 1 : 4.000 à 1 : 5.000 que le gonflement est le plus fort. Il est moindre dans des solutions plus concentrées ou plus diluées. Dans une solution au dixième, le tendon ne gonfle pas. Il gonfle légèrement dans une solution au 20°. A partir de cette concentration le gonflement augmente progressivement à mesure que la concentration diminue pour atteindre comme nous l'avons dit, son maximum dans une solution à 1 : 4.000 à 1 : 5.000 (1).

2° Le gonflement que les tendons subissent dans des solutions d'acide azotique fortement concentrées (de 1 : 10 à

(1) Ne faut-il pas voir là l'influence de phénomènes électrolytiques ? Le gonflement n'a lieu que lorsque la dissociation en ions a acquis une certaine importance (solution au vingtième). Puis le gonflement augmente avec le degré de dissociation jusqu'à une dissociation optima (1 : 4.000 à 1 : 5.000) ; à partir de laquelle le gonflement diminue parce que la dissociation étant totale, la quantité d'ions libres diminue avec les concentrations. Mais alors pourquoi le comportement n'est-il pas le même avec les autres acides ? (H. W.).

1 : 500) n'est comparable ni à celui qu'ils subissent dans des solutions équimoléculaires d'autres acides, ni à celui que l'on observe dans les solutions d'acide azotique de concentration plus faible. Le gonflement observé dans les solutions d'acide azotique fortement concentrées est un gonflement qui donne au tendon un aspect hyalin ; le tendon durcit, ne s'écrase plus sous le doigt et revêt un aspect analogue à celui que l'on observe sur les tendons soumis à l'influence des alcalis. « On aperçoit les fibrilles conjonctives conservées et non modifiées par le réactif. C'est là une nouvelle preuve de l'existence de deux substances qui entrent dans la composition du faisceau conjonctif. Pour expliquer, en effet, ce gonflement qui se fait sans participation des fibres conjonctives, j'ai été conduit à admettre dans la structure du tissu conjonctif, une autre substance qui serait différente de celle qui constitue le contenu des fibrilles et que j'avais désignée sous le nom de « *substance basophile* »... « Je crois que la sensibilité extrême des tendons aux acides n'est pas l'apanage des tendons seuls, mais qu'il s'agit d'une propriété générale de tous les tissus. »

Dans une note ultérieure (1), ce même auteur fait observer que « si dans des expériences comparatives de plusieurs acides, on fait des solutions renfermant, pour un même volume, le même nombre de molécules d'acide, on voit que, surtout lorsqu'on envisage les acides d'un même groupe chimique, les différentes phases apparaissent à des concentrations moléculaires voisines... L'action des acides, dans ces différentes expériences, est fonction du nombre des molécules contenues dans un même volume de solution, à telle concentration moléculaires d'un *acide quelconque*, correspondra telle action sur le tendon ; ce sont des propriétés colligatives » (loc. cit.).

Gonflement des tendons dans l'eau distillée et dans les solutions salines. — Zacchariadès (2) laisse séjourner un tendon de rat pendant 3 heures dans une solution aqueuse saturée de NaCl ; il constate, qu'après cette immersion, le

(1) Zacchariadès. Des actions des divers acides sur la substance conjonctive. Bulletin Société Biologie, 29 déc. 1900.

(2) Zacchariadès. Société de Biologie 121 ; 1902.

tendon garde son aspect blanc et nacré caractéristique. Si, à ce moment, on le plonge dans de l'eau distillée pure, on constate qu'il devient transparent et se gonfle presque instantanément. Ce gonflement est énorme, comparable à celui que l'on observe quand on plonge un tendon dans des solutions d'acides énergiques.

Dans une seconde expérience, Zacchariadès met les tendons directement en contact avec l'eau distillée sans l'avoir préalablement immergé dans une solution de NaCl , et conduit l'expérience de la façon suivante : il découpe des fragments de tendons de rat en morceaux d'égal volume. Puis chaque morceau est déposé dans un verre de montre. Il ajoute ensuite dans chaque verre de montre une inégale quantité d'eau en élevant progressivement cette quantité d'eau, en allant du premier au dernier verre de montre. Par exemple, le verre N° 1 reçoit cinq gouttes d'eau, le verre N° 2 en reçoit huit, et ainsi de suite jusqu'au dernier verre de montre qui en reçoit cent. Après quinze heures, l'auteur constate que tous les fragments de tendons se sont gonflés, mais d'une façon inégale. Ainsi le gonflement augmente à partir du verre qui contient huit gouttes d'eau, jusqu'à celui qui en contient vingt gouttes ; puis, à partir de ce dernier verre, le gonflement diminue progressivement dans les verres suivants, jusqu'à celui qui contient cinquante gouttes d'eau ; *au delà de cette quantité d'eau, cette dernière ne produit plus aucun gonflement.*

Zacchariadès a varié cette expérience en lui donnant la forme que voici. Au lieu de faire varier la quantité d'eau dans chaque verre, c'est la quantité de tendons qui varie. On verse 50 gouttes d'eau dans chacun des verres de montre utilisés, puis on dépose un fragment de tendon dans le premier verre, deux dans le second, et ainsi de suite, en augmentant le nombre de tendons d'un verre au suivant. On constate le lendemain que le tendon qui se trouvait seul dans le premier verre, *n'avait pas modifié son volume*, tandis que dans les autres verres contenant plusieurs tendons, ces derniers avaient gonflé. C'est donc la contre-partie de l'expérience précédente.

Ajoutons enfin que des expériences antérieures avaient appris à Zacchariadès que lorsque la quantité d'eau distillée

atteignait 10 centimètres cubes et au delà, les tendons qui y étaient immergés ne se gonflaient jamais. C'est même ce qui lui avait permis d'étudier l'action de différents acides sur le tissu tendineux. Comment expliquer que de petites quantités d'eau gonflent les tendons, alors que des quantités d'eau plus considérables ne parviennent pas à les faire gonfler ?

Zacchariadès ne croit pas qu'il s'agisse, ici, de phénomènes osmotiques ; mais il croit plutôt être en présence de phénomènes de dissociation. Le NaCl contenu normalement dans les fragments de tendons, se décomposerait au contact de l'eau pour donner de l'hydrogène, de l'acide chlorhydrique et de la soude caustique. En mettant un fragment de tendon dans de l'eau distillée, on aurait fait, en réalité, une solution extrêmement diluée de NaCl . « Or, les théoriciens modernes nous enseignent que dans les grandes dilutions, la plupart des molécules d'électrolytes sont dissociées et que l'eau distillée, elle-même, est, à l'état normal, légèrement dissociée. Nous aurions donc dans l'eau qui contient un tendon, les ions suivants : Na , Cl , H , OH qui sont les ions de l'acide chlorhydrique et de la soude caustique... Il me semble que la cause du gonflement que nous avons constaté dans les expériences qui viennent d'être relatées, c'est la présence d' HCl ou, si l'on veut, des ions Cl et H , et surtout des ions H , car on sait depuis Oswald, que les réactions des acides en solution aqueuse reposent uniquement sur l'action des ions H chargés positivement. »

Perméabilité de la peau de grenouille à l'eau distillée et aux sels minéraux (Maxwell (1)). — En 1890, Reid (2) avait examiné la perméabilité de la peau de grenouille à l'eau, et avait pu distinguer trois périodes dans l'imbibition de ce tissu :

1° Dans la première période, la quantité d'eau allant de la surface externe vers la surface interne est plus considérable que celle qui passe en sens inverse.

2° Dans une seconde période, l'intensité du transit de l'eau est égale dans les deux sens.

(1) Maxwell, Amerc. journal of physiol. 32, 1913.

(2) Reid, journal of physiol. 1890,

3° Enfin, dans la dernière période de l'expérience, la quantité d'eau qui passe de la surface interne vers l'externe est plus grande que celle qui marche en sens inverse.

Le phénomène observé dans la première période n'est donc pas dû, comme on l'avait pensé, à une action vitale de la peau, puisque la troisième période montre que la peau morte peut être le siège d'une osmose en sens inverse.

Reid remarqua encore que le chloroforme influence le transit de l'eau à travers une peau de grenouille vivante en inversant le sens de l'osmose ; mais Maxwell (loc. cit.) pense que le chloroforme modifie simplement les propriétés physiques de la peau, et ne croit pas que cette substance agisse, comme le pense Reid, sur l'activité du protoplasma.

En 1904, Overton (1) a fait également de nombreuses expériences sur la peau de grenouille.

Il constate que quand la grenouille est immergée dans l'eau, il pénètre dans le corps de l'animal une grande quantité d'eau.

Si on plonge la grenouille dans une solution de NaCl à 6,5 : 1.000 (supposée isotonique), il passe encore du liquide dans le corps de la grenouille.

En 1908, Snyder (2) confectionne des sacs avec des peaux de grenouille. Il remplit ces sacs avec du liquide de Ringer et les immerge dans ce même liquide ; Snyder conclut de ses expériences à une absorption chimique par la peau de grenouille.

Expériences de Maxwell (loc. cit.). On sait que quand une patte de grenouille est solidement ligaturée à la racine du membre et qu'elle est immergée dans l'eau, cette patte absorbe une énorme quantité d'eau. Une partie de l'eau absorbée l'est par les tissus, l'autre partie reste libre dans les interstices de ces derniers. Or, quand la patte est dépouillée, la peau ainsi détachée laisse passer de l'eau. Maxwell en fait un sac en ligaturant les deux bouts de la peau et plonge le sac ainsi formé, dans de l'eau distillée, puis le sac cutané est retiré et pesé. Il est ensuite replongé dans l'eau

(1) Overton. Verhandlungen der physikal. medizinischen Gesellschaft zu Würzburg 26, 277 ; 1904.

(2) Snyder. Centralblatt für Physiologie 22, 236 ; 1908,

distillée où il reste immergé pendant 48 heures. On voit qu'après 21 heures, son poids est augmenté de 110 à 150 : 100, et qu'après 48 heures, cette augmentation de poids avait atteint de 185 à 232 : 100. La quantité d'eau qui a passé à travers la peau est donc énorme.

A la fin de l'expérience, Maxwell vide le sac et ne pèse que la peau ; il constate que cette dernière se gonfle à peu près comme tous les autres tissus, c'est-à-dire en subissant une augmentation de poids de 7 à 10 : 100 après 48 heures (1).

Dans une autre expérience, Maxwell remplit les sacs cutanés d'eau, et les plonge dans des solutions salines à différentes concentrations. Voici les résultats de ses pesées.

Immergé dans une solution de NaCl à $\frac{1}{25}$ N	le poids <i>augmente</i> de 70 : 100
— — — — — $\frac{1}{15}$ N	le poids <i>diminue</i> de 10 : 100
— — — — — $\frac{1}{10}$ N	le poids <i>diminue</i> de 40 : 100

Enfin, dans une dernière expérience, Maxwell remplit les sacs cutanés avec la solution de Lœb composée de la façon suivante :

NaCl à $\frac{1}{8}$ N : 100 parties.

CaCl² à $\frac{1}{8}$ N : 2 parties.

KCl à $\frac{1}{8}$ N : 2 parties.

Puis il immerge les sacs ainsi remplis dans un liquide de composition identique. L'augmentation de poids des sacs n'est environ que de 3 : 100. Maxwell conclut de ses expériences que la peau de grenouille, très perméable à l'eau, l'est peu aux sels minéraux.

Maxwell a également observé le passage d'eau à travers

(1) On voit que Maxwell croit que tous les tissus ont le même pouvoir d'imbibition. Nous verrons plus loin que cette manière de voir n'est conciliable ni avec le résultat de nos recherches ni avec ceux obtenus par Meyer et Schaeffer (Journal de physiologie, N° 1. 1914).

la peau, alors que la pression osmotique est la même des deux côtés. Mais, dans ce cas, la quantité d'eau qui passe est très faible, surtout en comparant ce transit de l'eau à travers la peau, avec celui que l'on observe dans les organes excréteurs ou sécréteurs, comme le rein et les glandes salivaires.

Maxwell ne croit pas à l'influence d'une activité vitale de la peau de grenouille dans le passage de l'eau à travers cette dernière.

Recherches de Siebeck (1) sur la perméabilité des cellules rénales. — Avant lui, Gurwitsch (2) avait montré que les cellules du rein de grenouille absorbent des colorants non solubles dans les lipoides (indigo, rouge-congo et bleu d'aniline soluble dans l'eau).

Höber et Königsberg (3) prétendent également que les cellules épithéliales de la grenouille (et de mammifères), absorbent des colorants insolubles dans les lipoides.

Bieberfeld (4) constata que des morceaux d'écorce de rein de lapin imbibés dans une solution de NaCl d'une concentration variant de 12 à 15 : 1.000, absorbaient de l'eau. Il en était de même pour des fragments de substance médullaire immergés dans une solution de NaCl à 25 : 1.000.

En 1908 (5) Hirokava trouva l'écorce du rein de différents animaux à sang chaud, en équilibre avec des solutions de NaCl dont la concentration variait de 10 à 20 : 1.000.

Enfin, en 1912, R. Siebeck (loc. cit.), se posa les questions suivantes :

1° Dans quelles limites la pression osmotique d'une solution, dans laquelle est immergé le tissu rénal, influe-t-elle sur l'équilibre aqueux de ce dernier ?

2° Les reins prennent-ils des sels aux solutions qui les baignent ?

3° Y a-t-il des facteurs capables d'influencer cette absorption de sel ?

(1) Richard Siebeck. Über die osmotischen Eigenschaften der Nieren. Pfl. Arch. 158, 443 ; 1912.

(2) Gurwitsch. Pfl. Arch. 91, 71 ; 1902.

(3) Höber et Königsberg. Pfl. Arch. 108, 323 ; 1905.

(4) Bieberfeld. Pfl. Arch. 102, 116 ; 1904.

(5) Hirokava. Hofmeister's Beiträge 2, 458 ; 1908.

Voici quels furent les résultats des recherches de Siebeck.

§ 1. — Les reins de grenouille sont en équilibre aqueux avec des solutions de diverses substances, à la condition que ces solutions soient isotoniques au sérum du sang de grenouille. Ces solutions sont : la solution de Ringer, les solutions de chlorures et de bromures de sodium et de lithium, les solutions de nitrate de sodium, les mélanges de chlorures de potassium et de calcium, ou les mélanges de chlorure de potassium et de chlorure de magnésium, les solutions de sucre de canne. Toutes ces solutions n'ont d'autres propriétés communes que leur isotonie. On peut donc conclure que dans ces solutions, c'est bien la pression osmotique qui conditionne l'équilibre aqueux.

§ 2. — Dans les solutions de ces diverses substances, le poids du rein se modifie avec la concentration de la solution. Plus la pression osmotique de la solution est *faible*, plus est grande l'augmentation de poids de l'organe immergé, et plus est grand le volume des cellules du rein. Le volume de ces dernières se modifie donc dans le même sens qu'un système osmotique, quand on fait varier la pression osmotique de la solution ambiante. Mais le changement de volume des cellules rénales est bien moins accentué que celui d'une cellule osmotique idéale. Tandis que pour cette dernière, le volume est inversement proportionnel à la pression osmotique du liquide extérieur, le volume de la cellule du rein n'augmente que d'un quart environ quand la pression osmotique du milieu extérieur diminue de moitié.

§ 3. — La réaction alcaline ou acide des solutions, n'a pas d'influence sur l'équilibre aqueux du rein, tant que des lésions durables des cellules n'ont pas eu lieu, tant, par conséquent, que les cellules sont intactes.

§ 4. — Ce n'est que chez les cellules intactes que le volume se modifie avec la concentration du liquide ambiant. Quand la structure des cellules a été altérée par une congélation suivie de dégel, le poids du rein devient indépendant de la pression osmotique du liquide qui le baigne.

§ 5. — Pour expliquer l'équilibre aqueux des cellules, il y a deux facteurs principaux qui nous sont connus : la pression osmotique et le gonflement des substances colloïdes.

Pour ce qui est des phénomènes de gonflement, ils sont avant tout dépendants de la réaction de la solution. Nous avons vu, au contraire, au § 3, que l'équilibre aqueux entre les fragments de reins et les diverses solutions examinées, était indépendant de la réaction.

On sait, d'autre part, que le gonflement des colloïdes est suspendu par l'effet des sels neutres. On pourrait, au premier abord, penser que la diminution de poids qui répond à l'augmentation de la concentration, tient à ce fait. Mais il n'en est pas ainsi. Car les différents sels neutres agissent d'une façon identique quand ils sont en concentrations équimoléculaires, tandis que l'influence dégonflante (entquellende Einfluss) des sels neutres, varie avec la nature de leur anion et de leur cation. D'ailleurs, la valeur des observations faites sur les colloïdes est diminuée par le fait que tous les colloïdes ne se comportent pas de la même façon, et que les colloïdes cellulaires ne peuvent pas être étudiés dans leur état normal.

On ne saurait assimiler sans réserves les phénomènes d'imbibition observés sur la fibrine et la gélatine, à ce qui se passe dans les colloïdes cellulaires. Siebeck ne croit pas qu'il soit établi, d'une façon certaine, que l'équilibre aqueux du rein au sein des différentes solutions employées par lui, repose sur des phénomènes de gonflement. Selon cet auteur, le comportement des reins au sein des dites solutions rappelle bien plutôt un système osmotique. Il se représente les cellules comme ayant une pression osmotique active. C'est ce qui expliquerait que les phénomènes d'absorption sont complètement modifiés quand la structure cellulaire est altérée. Enfin, si on admet qu'une pression osmotique intracellulaire entre en jeu, on doit admettre qu'il existe dans la cellule une phase ayant les propriétés d'une solution étendue, et que cette phase est limitée par une autre phase antagoniste qui s'opposerait à la diffusion des substances en solution, et principalement des sels minéraux.

§ 6. — Mais comment comprendre que le changement de volume d'un rein immergé soit moins marqué que ne le ferait prévoir les changements dans la pression osmotique, de la solution ambiante ? Dans un système de ce genre, composé des cellules les unes à côté des autres, comme c'est

le cas, pour le rein, une cellule ne peut pas augmenter son volume à sa guise. On pourrait donc penser que ce n'est pas tant l'élasticité des cellules prises individuellement qui s'oppose à leur expansion, que la juxtaposition des cellules les unes à côté des autres. Mais si cette hypothèse (1) était vraie, l'augmentation de poids des reins par rapport au changement de la pression osmotique, devrait être d'autant *moindre*, que l'organe aurait déjà augmenté son volume. Or, l'expérience paraît prouver le contraire. Il est d'ailleurs peu probable que cette contre-pression élastique sur un organe qui augmente de 25 à 30 : 100 de poids, joue un rôle important, car les reins peuvent, sans dommage, doubler leur volume.

Overton a émis l'hypothèse suivante : la phase aqueuse de la cellule qui est tout d'abord influencée par la diminution de la pression osmotique du milieu ambiant, ne constituerait qu'une partie de la cellule. D'autre part, les lois de l'osmose applicables aux solutions très diluées ne le sont plus aux solutions qui contiennent des substances à poids moléculaire élevé, comme, par exemple, les solutions de sucre de canne. Dans de telles solutions, la pression osmotique augmente beaucoup plus vite que le volume de l'organe ne diminue. Il existe donc ici des phénomènes aberrants qui suivent des lois particulières ; et comme les cellules contiennent certainement des substances à poids moléculaires extrêmement élevés, on peut supposer que la phase liquide des cellules en contienne en solution ; et c'est ce qui expliquerait les écarts observés entre les variations de volume et les variations de la pression osmotique.

On ne peut, en somme, affirmer que ceci : c'est que la cellule contenant environ 80 : 100 d'eau, il est impossible que toute l'eau soit contenue dans la cellule à l'état de solution aqueuse. C'est ce qui fait qu'Overton admet qu'une partie seulement de l'eau cellulaire est à l'état de solution aqueuse, tandis que le reste de cette eau se trouverait à l'état d'eau de gonflement qui serait liée à d'autres substances d'une façon quelconque, mais pas à l'état de solution aqueuse.

(1) Cette hypothèse est contredite par le fait que les globules rouges, qui nagent librement dans le milieu ambiant, subissent dans leurs variations de volume, la même anomalie que les cellules rénales. (Voyez page 63). H. W.

§ 7. — Dans des solutions isotoniques au sérum de grenouille et autres que celles indiquées au § 1, l'équilibre aqueux se modifie rapidement. Siebeck a surtout en vue les solutions de KCl .

Dans une solution de KCl isotonique au sérum, le volume du rein augmente. Les tissus empruntent à cette solution de l'eau et du KCl dans les mêmes proportions que celles que ces éléments affectent dans la solution.

Après 10 à 12 heures, le phénomène est encore complètement réversible. Siebeck attire l'attention sur ce fait que les reins qui, dans une solution de Ringer, ne prennent ni n'éliminent de sel, quelle que soit la concentration et la solution, en prennent dans une solution de KCl . C'est la première fois qu'il serait établi, d'après Siebeck, que des cellules animales absorbent, d'une façon réversible, un sel inorganique, dans le cours d'expériences osmotiques.

Maintenant, Siebeck se demande comment interpréter ce fait ? Il croit que l'interprétation la plus simple serait de faire appel aux lois de l'osmose. Il faudrait admettre que le KCl entrât d'abord dans la cellule. Par suite de cette endosmose, la pression osmotique intracellulaire se trouverait accrue, et amènerait alors le passage d'une certaine quantité d'eau empruntée à la solution extérieure de KCl . Cette hypothèse semblerait confirmée par le fait que les cellules rénales paraissent emprunter du KCl et de l'eau dans les mêmes proportions qu'ils sont contenus dans la solution.

§ 8. — Une autre confirmation de l'hypothèse précédente pourrait être trouvée, selon Siebeck, dans ce que l'augmentation de poids du tissu rénal dans une solution de KCl ne se produit pas de la même façon quand la structure de la cellule est altérée. Toutefois, cet auteur se demande si une autre explication ne serait pas possible. Ne pourrait-on admettre, en effet, que les colloïdes cellulaires se gonflent dans la solution de KCl , et que, grâce à cet état de gonflement, ils absorbent des molécules de KCl . C'est ainsi que l'hydrogel d'acide salicylique absorbe, d'après Van Bemmelen, des chlorures, des sulfates, des nitrates de potassium et de sodium en solutions aqueuses.

Siebeck ne croit pas que l'on puisse savoir quelque chose de plus précis pour le moment, mais il pense que les faits

expérimentaux ont plutôt l'aspect de phénomènes osmotiques.

§ 9. — Dans une solution hypotonique de KCl , le poids du rein augmente aussi bien que dans une solution isotonique. Dans une solution hypertonique, il diminue d'abord, puis augmente de poids. Ces faits se laissent facilement expliquer (1) par l'hypothèse d'un processus osmotique, mais sont à peu près incompréhensibles en tant que phénomènes de gonflement.

§ 10. — L'action du KCl peut être empêchée par d'autres substances. De ce point de vue, le $NaCl$ et le sucre de raisin exercent une action antagoniste (2) à peu près analogue. Si la pression osmotique est exercée moitié par le KCl et moitié par du $NaCl$ ou du sucre de raisin, alors le poids du rein n'augmente, dans une journée, que de 10 : 100 du poids initial, au lieu d'augmenter de 100 : 100, comme c'est le cas dans une solution de KCl pure. Il est intéressant de faire observer que des substances aussi différentes que le $NaCl$ et le sucre de raisin, agissent de la même façon.

§ 11. — Les chlorures à cation bivalent exercent sur les solutions de KCl , une action antagoniste plus marquée que le $NaCl$ ou le sucre de raisin. Si la pression osmotique de la solution est exercée moitié par KCl et moitié par $CaCl^2$ ou par $MgCl^2$, le poids du rein reste plusieurs jours sans changement. Les cations bivalents exercent donc une action antagoniste spéciale. Quand on immerge un rein dans un mélange de KCl et d'un autre sel à cation monovalent, le rein augmente de poids. Mais cette augmentation de poids fait défaut quand l'autre sel est un sel de calcium ou un sel de magnésium. Cela rappelle l'antagonisme si souvent mis en lumière par Lœb entre les ions de K et ceux de Ca , et d'une façon générale, entre les métaux mono et bivalents (3).

§ 12. — Une réaction alcaline augmente la vitesse de l'action du KCl de 3 fois environ ; tandis que dans une solution

(1) Ce n'est pas l'avis de tout le monde. Nous reviendrons plus tard sur ce point quand nous aurons exposé nos recherches.

(2) A propos des actions dites antagonistes, nous renvoyons également à l'exposé de nos recherches, au chapitre suivant, ainsi qu'au dernier chapitre de ce mémoire.

(3) Voir page 171.

de Ringer, le phénomène d'imbibition est indépendant de la réaction de la solution.

§ 13. — Tous les sels de K n'agissent pas de la même façon. Ainsi, dans une solution de *KBr*, les reins augmentent de poids plus lentement que dans une solution de *KCl*. Dans une solution de nitrate ou de phosphate de potassium l'augmentation de poids est plus lente encore que dans *KBr*. Dans une solution de K^2SO^4 , le poids n'augmente guère tant que les cellules restent intactes.

§ 14. — De tout ce que nous venons de dire sur l'action du K, il résulte que l'hypothèse suivante paraît la plus apte à expliquer les phénomènes d'imbibition du tissu rénal. « La couche limitante des cellules serait perméable au K. Cette perméabilité au K pourrait être influencée par les autres sels ajoutés à la solution de K. Les cations bivalents (*Ca* et *Mg*) peuvent suspendre la perméabilité aux sels de K ; le *NaCl* et le sucre de raisin peuvent, au moins la diminuer. L'alcalinisation de la solution augmente la perméabilité des cellules au K. »

Les différents sels de K pénètrent dans la cellule avec des vitesses très différentes. Ceci peut s'expliquer de la façon suivante. Ou bien la couche limitante des cellules est, par elle-même, plus perméable à certains anions qu'à d'autres ; ou bien les anions modifient la perméabilité cellulaire en exerçant sur elle une influence spécifique. Si le K contenu à l'intérieur des cellules ne diffuse pas en dehors, cela doit tenir également à l'anion auquel ce cation est lié.

§ 15. — En ce qui concerne l'imbibition des reins dans d'autres solutions salines, Siebeck fait les remarques suivantes : dans une solution de chlorure d'ammonium, les reins augmentent rapidement de poids, beaucoup plus vite que dans une solution de *KCl*. Les chlorures de cations bivalents modifient rapidement l'équilibre aqueux. Dans des solutions isotoniques, les reins diminuent d'abord, puis augmentent de poids. Le phénomène est irréversible quand les organes, après avoir subi une diminution de poids, ont de nouveau augmenté de poids.

Dans une solution contenant des quantités isosmotiques de *NaCl* et d'un chlorure à cation bivalent (calcium, magné-

sium ou baryum), le rein diminue de poids d'une façon définitive.

En ce qui concerne l'action des anions, Siebeck a noté que dans des solutions isotoniques de nitrates, phosphates et sulfates, les reins diminuent d'abord de poids. Dans les solutions de nitrates et de phosphates, cette diminution de poids est suivie d'une seconde phase pendant laquelle le poids augmente légèrement. Cette seconde phase se produit plus vite dans les solutions de K que dans les sels de Na. Le phénomène devient bientôt irréversible. Dans toutes ces solutions, même quand elles sont isotoniques à une solution de Ringer, l'équilibre aqueux n'est pas invariable. Siebeck ne se l'explique pas, mais il en conclut que ce n'est que dans des conditions tout à fait particulières que l'équilibre aqueux reste inchangé dans des solutions isotoniques. Cela indique combien il faut être prudent sur les hypothèses que l'on émet, touchant le mécanisme des échanges cellulaires. Ces phénomènes sont encore trop complexes pour que l'on puisse établir leur signification exacte.

Siebeck fait observer, en terminant, que tandis que les recherches faites avant lui sur les propriétés osmotiques des cellules animales, semblent prouver que seules les substances liposolubles pénètrent dans les cellules, ces dernières opposant une certaine résistance à l'entrée des sels (du moins tant que les cellules restent intactes), ses recherches montrent que les cellules du rein sont perméables aux sels, même à l'état normal. Ce n'est que dans certaines solutions bien déterminées que l'équilibre aqueux des cellules du rein est réglé exclusivement par la pression osmotique du liquide extérieur ; dans la plupart des solutions, il se produit une absorption ou une élimination d'eau, même dans les solutions isotoniques. Il est probable que ces variations dans l'équilibre aqueux s'accompagnent d'absorption ou d'élimination de molécules salines.

Imbibition du tissu nerveux. — *Recherches de Hooker et M. Fischer* (1). — Des expériences antérieures (2) avaient

(1). M. Hooker et Martin Fischer. « Sur l'absorption d'eau par le tissu nerveux », *Zeitschr. für Chemie u. Industrie der Kolloide* 1912.

(2) M. Fischer. *Pfl. Arch.* 124, 69; 1908.

amené M. Fischer à penser que les colloïdes cellulaires et l'état dans lequel ils se trouvent conditionnent, en grande partie, sinon exclusivement, l'imbibition des tissus à l'état normal comme à l'état pathologique. Il y a, pour cet auteur, analogie complète entre les phénomènes d'imbibition observés sur les cellules ou les tissus et ceux observés sur les colloïdes, surtout sur les colloïdes albuminoïdes comme la fibrine et la gélatine.

Les conditions extérieures qui influent sur l'imbibition de la gélatine et de la fibrine agissent de la même façon sur l'imbibition du tissu musculaire. Or, cela ne tient pas à la nature spéciale du tissu musculaire, car l'œil qui contient plusieurs genres de tissus absorbe et élimine l'eau de la même façon qu'un bloc de gélatine ou de fibrine. Certains auteurs admettent cette manière de voir (Traube) (1). D'autres (R. Höber) (2) ont contesté la théorie de Fischer. Ce dernier, en étudiant le gonflement de la fibrine, était arrivé aux conclusions suivantes :

A. La fibrine gonfle dans une solution d'un acide quelconque plus que dans de l'eau distillée. Quand la concentration de l'acide augmente, la quantité d'eau absorbée augmente également. Toutefois, pour les acides forts, ce n'est vrai que jusqu'à une certaine concentration ; une fois cette concentration-limite atteinte, une nouvelle augmentation d'acidité, au lieu de favoriser l'absorption d'eau, la fait diminuer.

B. *Le gonflement de la fibrine dans n'importe quelle solution acide est diminué par l'addition de n'importe quel électrolyte* (3). Ceci est vrai, non seulement pour les sels alcalins, mais pour n'importe quel sel neutre.

C. Cette action empêchante des électrolytes augmente avec leur concentration.

D. En ce qui concerne *l'action spécifique* des divers sels sur l'imbibition de la fibrine, quand ils sont employés à une

(1) Traube. Pfl. Arch. 1911.

(2) R. Höber. Biolog. Zentralbl. 31 1911.

(3) C'est nous qui soulignons. Nous attirons l'attention sur cette conclusion de M. Fischer parce que la plupart des auteurs nous parlent de l'*antagonisme* qui existerait entre l'action des électrolytes à cations bivalents et de ceux à cations monovalents. Or Fischer nous apprend ici que leurs actions marchent *dans le même sens*. Nos recherches confirment cette manière de voir. (H. W.).

même concentration, l'expérience montre que leur action empêchante varie sensiblement avec chaque sel.

Si on compare l'action empêchante des différents sels d'*un même métal*, voici dans quel ordre se groupent les anions en commençant par ceux qui entravent le moins l'imbibition.

Chlorure < Bromhydrate < Nitrate < Sulfocyanate < Iodure < Acétate < Sulfate < Phosphate < Citrate.

Si, au contraire, nous comparons les différents sels d'*un même acide*, nous verrons que les métaux se groupent dans l'ordre suivant, en commençant toujours par les moins empêchants :

Ammonium < Potassium < Sodium < Magnésium < Calcium < Baryum < Strontium < Cuivre < Fer.

E. L'action empêchante des non-électrolytes est beaucoup plus faible que celle des électrolytes. Les non-électrolytes comme l'alcool méthylique et éthylique, la glycérine, le dextrose, l'urée ont à peine d'action sur l'imbibition.

F. L'absorption et l'élimination d'eau par la fibrine sont des processus en grande partie réversibles. Par exemple, la fibrine, quand elle est arrivée à son maximum d'imbibition dans une solution acide, se ratatine dès qu'on ajoute un sel quelconque. Si, par contre, la fibrine est immergée d'abord dans un mélange d'acide et d'un sel neutre et qu'ensuite, on l'immerge dans une solution acide *pure* et de concentration égale à celle du mélange acide + sel, on voit la fibrine augmenter de volume.

« Les expériences suivantes vont montrer que la fixation et l'élimination d'eau par le tissu nerveux (encéphale et moelle), marchent parallèlement et point par point à la fixation et à l'élimination d'eau par la fibrine, ce qui prouve que, dans les grandes lignes, le phénomène observé est le même dans les deux cas. »

1° *Augmentations de poids subies par des encéphales de lapins, immergés dans de l'eau pure, et dans un mélange d'eau et d'acide.*

Augmentations de poids	1 h 20	4 h 20	22 h 35	27 h	
	49: %	90 p. 100	208 p. 100	240 %	dans H ² O pure
	47	97	237	246	dans 100 centm. cubes d'H ² O + 0,0001 N. HCl
	55	104	221	260	— + 0,0003 N d'HCl
	52	83	138	153	— + 0,0005 N »
	43	64	85	91	— + 0,0001 N »
	25	38	64	73	— + 0,0002 N »

On voit de ce qui précède que :

a) Si le cerveau est mis dans une solution d'un acide dilué, l'augmentation de poids est beaucoup plus notable que si on l'immerge dans de l'eau pure. A chaque augmentation de la concentration de l'acide répond une augmentation de la quantité d'eau absorbée. Toutefois, ce n'est vrai que jusqu'à un certain point. Ce point, une fois dépassé, l'augmentation d'acide diminue l'imbibition.

b) et c) La quantité d'acide qui se forme spontanément dans l'encéphale, après l'extraction de ce dernier hors du corps de l'animal, est si près de la concentration acide optima, grâce à laquelle on obtient le maximum d'imbibition qu'il n'est nullement nécessaire, dans nos futures expériences, pour assurer le gonflement des colloïdes cérébraux *en milieu acide*, d'ajouter un acide quelconque à la solution employée.

Si, par conséquent, nous plaçons simplement les fragments de tissu nerveux dans des solutions de différents sels, nous observerons, par cela même, l'action d'une certaine concentration acide (répondant à l'acide formé par le tissu lui-même), en même temps que l'action de la substance dissoute, sur l'imbibition des tissus immergés.

Le tableau suivant montre que l'addition d'un électrolyte diminue l'absorption d'eau. Plus la concentration est forte, moins est grande l'augmentation de poids (1).

(1) Fischer fait observer que les encéphales provenant soit de lapins ayant été chassés avant l'expérience soit de lapins tués longtemps avant l'immersion du tissu nerveux, présente une courbe d'imbibition différente des encéphales provenant de lapins préalablement reposés et dont les encéphales ont été immergés tout de suite après la mort, ce qui tiendrait selon Fischer à la présence d'acides dans les tissus des premiers.

Durée de l'imbibition	dans 120 cent. m. cubes d'eau à laquelle on ajoute :				
	1/2 moléc. NaCl	1/4 mol. NaCl	1/6 mol. NaCl	1/8 mol. NaCl	
2 h. 45	+ 2 % d'augmentation de poids	+ 10 %	+ 9 %	+ 11 %	
5 h. 45	+ 6 % »	+ 14 »	+ 17 »	+ 23 »	
23 h. 15	+ 21 % »	+ 33 »	+ 38 »	+ 63 »	
29 h. 25	+ 24 % »	+ 37 »	+ 56 »	+ 75 »	

d) Les solutions équimoléculaires de différents sels agissent d'une façon tout à fait différente.

Ainsi, en employant des sels d'un même métal (de sodium ou de potassium), les anions empêchent l'augmentation de poids dans l'ordre suivant, en commençant par les anions les moins empêchants :

Chlorures < nitrates < acétates < phosphates < sulfates (1).

D'autre part, liés à un même radical acide, les cations se rangent dans l'ordre suivant, en commençant par les moins empêchants :

Ammonium, Sodium, Potassium, Strontium, Magnésium, Baryum, Calcium, Fer.

Tous ces faits concordent, disent les auteurs du mémoire que nous analysons, avec ceux observés sur la fibrine (2).

e) Les non-électrolytes ont sur le gonflement du tissu nerveux (en milieu acide), une influence empêchante beaucoup moindre que les électrolytes, quand ils sont employés à concentration égale ou même supérieure.

f) L'absorption et l'élimination d'eau sont des phénomènes réversibles. Si on immerge un encéphale dans de l'eau pure (ce qui revient à l'immerger dans de l'eau acidulée par suite de l'acide formé *post mortem*) et qu'on transporte ensuite cet encéphale dans une solution saline quelconque,

(1) Notons que dans les expériences de Fischer sur l'imbibition de la fibrine, les sulfates se plaçaient avant les phosphates. (Voyez page 278). H. W.

(2) Ici encore nous ferons remarquer que l'ordre des cations indiqué n'est pas tout à fait le même que celui indiqué plus haut (page 278). Nous attirons particulièrement l'attention sur ce fait que d'après Hooker et Fischer l'augmentation de poids des *encéphales* serait plus considérable dans NaCl que dans KCl. Nos recherches nous ont amené à un résultat inverse. Voici à titre documentaire les chiffres notés par Hooker et Fischer temps en heures :

	1 ^h 30	18 ^h 15	26 ^h	47 ^h	67 ^h
120 cmcs H ² O + 1/6 moléc. KCl	+ 3 %	+ 34 %	+ 43 %	+ 60 %	+ 84 %
123 cmcs H ² O + 1/6 moléc. NaCl	+ 12	+ 42	+ 46	+ 63	+ 82

H. W.

il diminue de poids ; si enfin on l'immerge à nouveau dans une solution d'eau acidulée pure, il augmente à nouveau de poids.

De même, un encéphale d'abord immergé dans un mélange sel + acide, puis transporté dans une solution d'eau acidulée pure, voit son augmentation de poids accroître sa vitesse. Si, ensuite, on le retire de la solution d'eau acidulée pure et si on le transporte dans une solution d'eau + acide + NaCl, l'encéphale subit une diminution de poids.

Hooker et Fischer pensent avoir démontré que l'absorption et l'élimination d'eau se font par un même processus dans le tissu nerveux et les colloïdes. De là la conclusion générale de ces auteurs : « *Les colloïdes des tissus et l'état dans lequel ils se trouvent, sont les facteurs les plus importants, sinon les seuls qui conditionnent la quantité d'eau fixée par les tissus.* »

Recherches histologiques en rapport avec les phénomènes d'imbibition

Influence des solutions salines sur l'image microscopique des nerfs. — Höber (1) a recherché si l'état d'excitabilité des nerfs se révélait au microscope.

Des nerfs sciatiques en connexion avec leur muscle gastrocnémien étaient immergés pendant 24 heures dans différentes solutions salines isotoniques ; puis ces nerfs étaient dissociés sur le porte-objet du microscope et colorés par le procédé de Bethe (2). Une première série de préparations montraient à Höber que *l'image microscopique du nerf examiné variait avec le sel dans lequel on l'avait immergé* ; mais il fut impossible d'établir un rapport entre les préparations obtenues et le degré d'excitabilité des nerfs.

En classant les sels d'après l'influence qu'ils exercent sur l'aspect granuleux de la gaine de myéline, on peut établir deux groupes de sels.

Au premier groupe, appartiennent les sulfates, phosphates et tartrates de sels alcalins.

(1) Höber. Zentralblatt f. Physiologie 19, 390 ; 1905.

(2) Bethe. Allgemeine Anatomie u. Physiol. d. Nervensystems, p. 125, 1903.

Au second groupe, appartiennent les chlorures et les bromures des mêmes sels.

Entre ces deux groupes, se tiennent les acétates.

La nature du cation paraît n'avoir guère d'importance. Or, nous avons déjà rencontré ces deux groupements de sels alcalins quand nous avons étudié leur action sur les muscles (1). Nous avons vu également que ces deux groupements se rencontraient en *chimie colloïde*, mais que cependant le processus engendré par ces sels sur les colloïdes ne paraissait pas en rapport avec l'excitation du muscle. Il paraît en être de même ici.

Dans une seconde série d'expériences, Höber employa une méthode permettant de colorer le cylindre-axe. Voici ce qu'il observa. Tout d'abord, les cylindre-axes présentèrent différents degrés dans l'intensité de leur coloration, et de plus, leur forme se modifia en variant de celle d'un filament à celle d'un large ruban.

En désignant par le signe $\pm$ la forme et la coloration que présente le cylindre-axe après traitement par NaCl , par le signe $+$, les cylindre-axes qui apparaissent fins et fortement colorés après traitement par les différents sels alcalins, et enfin, par le signe $-$ les cylindre-axes clairs et dissociés obtenus après traitement par ces mêmes sels, on obtient le tableau suivant :

	K	NH^4	Li	Na
Tartrate	— —			$\overline{+}$ +
So^4	— —	— —	—	$\overline{+}$ +
CH^2COO	— —		$\overline{+}$ —	$\overline{+}$
Cl	— —	— —	—	$\overline{+}$
Br				$\overline{+}$

Or, si nous nous reportons à ce que nous avons dit à l'occasion de l'excitabilité musculaire (2), nous constatons que les cations qui agissent sur cette dernière, se rangent de la façon suivante, en allant des cations les plus favorables à l'excitabilité, vers ceux qui lui sont le moins :

Na , Li , Cs , NH^4 , Rb , K .

(1) Voir pages 232 et suiv.

(2) Page 136.

Cet ordre de succession concorde parfaitement avec celui que nous obtenons en groupant ces mêmes cations selon leur action sur le cylindre-axe, le Na étant le métal qui donne le plus grand nombre de cylindre-axes étroits et bien colorés et le K celui qui fournit le plus grand nombre de cylindre-axes clairs et dissociés. « Autant que l'on peut s'en rapporter à ces faits d'ailleurs trop peu nombreux pour servir de base à des conclusions définitives, on peut dire pour le nerf, comme pour le muscle, que son excitabilité est liée à un état déterminé de dissolution ou de gonflement de certains « *colloïdes d'excitation* » (Erregungs Kolloïde), et que la dissociation, c'est-à-dire une plus grande solubilité de ces derniers équivaut à la perte de l'excitabilité. » Höber fait observer que ce qui donne une valeur toute particulière aux recherches microscopiques dont il vient d'être parlé, c'est qu'il a pu s'assurer que l'action des sels minéraux employés était, jusqu'à un certain point, réversibles, comme c'est le cas pour les modifications physiologiques de l'excitabilité.

E. Mayr (1), sous la direction de Bethe, a étudié les modifications histologiques produites par l'action des sels neutres sur la moelle du chien, et notamment sur les fibres des cordons de la moelle, les corps de Nissl et les noyaux des cellules ganglionnaires. Les modifications observées varient avec les différents sels employés ; et en sériant les actions de ces derniers, Mayr est arrivé à établir pour les sels un ordre de succession qui rappelle celui de la « série d'Hofmeister ».

Höber a étudié l'image ultramicroscopique du nerf en dehors et pendant l'excitation électrique ; il n'a pu constater aucune modification, produite par cette dernière.

Recherches de R. Legendre et H. Minot « Sur les essais de conservation hors de l'organisme des cellules nerveuses des ganglions spinaux. » (2) — Ces auteurs ont étudié des modifications histologiques survenues dans des ganglions spinaux du chien, immergés dans du sang défibriné oxygéné à 39°. « On peut conserver plusieurs heures, sans modifica-

(1) E. Mayr. Hofmeister's Beiträge 7, 5548; 1906.

(2) Comptes rendus des séances de la Société de Biologie 68, 795, 839 et 885; 1910.

tions morphologiques apparentes, des cellules nerveuses ganglionnaires, dans le sang du même animal défibriné, oxygéné et stérile, à la température du corps. Les changements cellulaires ne deviennent quelque peu importants que vers la huitième heure ; ils progressent différemment au centre et à la périphérie du ganglion. Les polynucléaires du sang réagissent et leur concentration a lieu exclusivement ou presque exclusivement sur et dans la gaine conjonctive.

« La comparaison de ces résultats avec ceux obtenus par Marinesco (1) et par Nageotte (2) dans la transplantation des ganglions spinaux sous la peau, montre que les modifications qui se produisent dans les deux cas sont analogues. Toutefois, celles obtenues dans le sang défibriné hors de l'organisme, paraissent avoir une marche plus lente. Des séries d'examens faites après des durées plus longues de séjour à l'étuve, nous diront si l'on peut observer, dans ce cas, les curieuses néoformations signalées par Nageotte. »

Dans une séance ultérieure de la société de Biologie, R. Legendre et H. Minot ont étudié « l'influence de la dilution sur la conservation des cellules nerveuses des ganglions spinaux hors de l'organisme ».

Avant eux, « Marinesco (3) avait examiné des ganglions plexiformes, un temps variable, après l'injection dans ceux-ci, de solutions de NaCl hypotoniques ou d'eau distillée, mais ses recherches ne fournissent aucun renseignement précis, tant à cause du traumatisme produit par l'injection que de l'incertitude de ses effets, ce procédé ne permettant ni de localiser l'effet de la solution, ni de connaître son degré d'hypotonie au contact des cellules nerveuses, ni de dissocier l'action de NaCl de celle de l'hypotonie dans le cas d'injections de ce sel ».

R. Legendre et Minot immergèrent des ganglions spinaux de chiens pendant les mêmes temps, dans du sang défibriné, dans des mélanges de sang + eau distillée contenant 1/4,

(1) G. Marinesco. Recherches sur la transplantation des ganglions nerveux. Comptes rendus de l'Acad. des Sc., 18, fév. 1907 ; quelques recherches sur la transplantation des ganglions nerveux. Rev. neur., 30 mars 1907.

(2) J. Nageotte. Neurophagie dans les greffes de ganglions rachidiens. Rev. neurol., 15 sept. 1907.

(3) G. Marinesco. La cellule 2, 1909.

1/2, 3/4 d'eau, et enfin, dans de l'eau distillée pure. Voici le résultat des observations faites par ces auteurs :

« Dans les mélanges de trois parties de sang et d'une partie d'eau, les ganglions subissent, avec la même vitesse, les mêmes modifications que dans le sang ; on observe la réaction polynucléaire et les changements différents des cellules du centre et de celles de la périphérie que nous avons signalés dans notre dernière note (1).

« Dans les mélanges à parties égales de sang et d'eau, les réactions sont autres. Pendant les premières heures, les cellules nerveuses restent normales et les polynucléaires s'accroissent à la surface ; mais, dès la quatrième heure, les cellules prennent un aspect vacuolaire, la substance chromatophile présente une apparence poussiéreuse ou homogène ; l'afflux des polynucléaires cesse. Après six heures, les cellules sont presque toutes informes et contiennent de nombreuses vacuoles souvent énormes. Après huit à dix heures, ces altérations sont tellement intenses, que la structure du ganglion en est bouleversée. Dans certains ganglions, on observe, entre la quatrième et la sixième heure, un grand nombre de cellules névrogliques logées dans des encoches des cellules nerveuses ; mais cet aspect est inconstant et, de plus, diminue vers la huitième heure.

« Dans les mélanges d'une partie de sang et de trois parties d'eau, les altérations cellulaires sont plus rapides et l'on n'observe plus de réaction polynucléaire. Après une demi-heure, les cellules périphériques du ganglion sont déjà atteintes et vacuolisées. Après une heure, seules les cellules les plus centrales sont encore normales. Après deux heures, toutes les cellules sont informes, présentent d'énormes et nombreuses vacuoles, ont une quantité normale de substance chromatophile, mais homogène et non plus granuleuse.

« Dans l'eau pure, les altérations des cellules nerveuses apparaissent encore plus tôt. Après un quart d'heure, les plus périphériques sont déjà atteintes ; après une heure, presque toutes le sont. Après une heure et demie, toutes les cellules nerveuses sont informes, extrêmement vacuolisées,

(1) Voir page 283.

à substance chromatophile homogène, à noyau très altéré et souvent méconnaissable. »

Recherches de R. Legendre sur les modifications histologiques subies par des ganglions spinaux immergés dans quelques solutions salines (1). — Legendre se proposa de rechercher l'action des divers constituants des liquides de Ringer et de Locke. A cet effet, il plaça des ganglions spinaux de chiens dans divers chlorures uni et bivalents, en solutions isotoniques. Voici les résultats de ses expériences :

« 1. *Chlorures univalents.* — *NaCl* à 9 p. 1.000 : Bühler avait déjà constaté que, dans la solution physiologique de *NaCl*, la substance chromatophile des cellules des ganglions spinaux disparaît en 24 heures ; il interprétait ce fait comme une dissolution ; il est plus vraisemblable que c'est un phénomène d'autolyse. Dans les expériences de Legendre, au bout de 24 heures, les cellules nerveuses sont un peu diminuées de volume, leur noyau beaucoup plus ; beaucoup ont perdu plus ou moins complètement leur substance chromatophile ; celles du centre du ganglion se colorent en rose par l'éosine ; à la périphérie, quelques-unes ont encore des corps de Nissl nettement individualisés, d'autres ne prennent plus qu'une teinte bleu pâle uniforme ; les cellules névrogliales sont très nombreuses à la périphérie où l'on observe quelques néoformations nerveuses. Après 48 heures, l'augmentation de la névroglie et les néoformations ont cessé ; la chromatolyse continue. Le troisième et le quatrième jour, toutes les cellules nerveuses se colorent en rose, quelques-unes seulement fixent un peu de bleu sur leur noyau.

« *KCl* à 11,46 p. 1.000 : Dans la solution isotonique de *KCl*, les cellules nerveuses s'altèrent plus rapidement et plus profondément. Après 24 heures, celles de la périphérie sont très déformées, ratatinées, déchiquetées, étoilées et forment souvent des masses bleues irrégulières, sans structure nette ; celles du centre sont mieux conservées, mais ne se colorent plus du tout par le bleu de méthylène. La névroglie n'est pas augmentée et l'on n'observe aucun bourgeonnement. Après deux jours, les déformations cellulaires ont progressé, la

(1) R. Legendre. Comptes rendus de la Société de Biologie 75, p. 246, 18 oct. 1913.

substance chromatophile a disparu de presque toutes les cellules. Les troisième et quatrième jours, elles se colorent toutes en rose uniformément (sauf quelques noyaux bleutés).

« NH_4Cl à 8,23 p. 1.000 : La solution équimoléculaire de NH_4Cl provoque surtout la vacuolisation des cellules nerveuses. Celles-ci diminuent de volume et se creusent rapidement de nombreuses vacuoles sphériques. La névroglie ne réagit pas. On n'observe aucun bourgeonnement. La substance chromatophile se dissout dans le cytoplasma qui prend une teinte bleu uniforme, puis disparaît, d'abord, au centre du ganglion, à la périphérie ensuite.

« 2. *Chlorures bivalents*. — CaCl_2 à 17,07 p. 1.000 : La solution isotonique de CaCl_2 provoque une diminution légère du corps cellulaire et une plus grande du noyau. Les cellules névrogliques n'augmentent pas sensiblement de nombre ; les cellules nerveuses ne bourgeonnent pas. Mais la substance chromatophile ne disparaît pas, même après quatre jours, et reste sous forme de corps de Nissl ou de fins grumeaux.

« MgCl_2 à 14,61 p. 1.000 : Même action que la solution de CaCl_2 ; les noyaux sont diminués, la substance chromatophile conserve sa forme normale et, même au bout de quatre jours, l'aspect du ganglion est peu modifié.

« BaCl_2 à 32 p. 1.000 : La solution isotonique de BaCl_2 a la même action que celle de MgCl_2 et conserve tout aussi bien la structure normale du ganglion.

« De cette série d'expériences, résulte donc que, si les chlorures univalents (NaCl , KCl , NH_4Cl) sont incapables d'arrêter la chromatolyse des cellules nerveuses des ganglions spinaux isolés du corps et conservés à 39 degrés, au contraire, les chlorures bivalents (CaCl_2 , MgCl_2 , BaCl_2), l'empêchent absolument.

« Bien plus, ils rendent très stable la coloration au bleu de méthylène, puisque toutes mes préparations microscopiques de ganglions sortant d'une solution de chlorure bivalent, traitées simplement par l'éosine-bleu, ne sont pas décolorées depuis plus d'un an qu'elles sont faites. Peut-être cette observation pourrait-elle être utilisée pour rendre moins fugitives les colorations au bleu de méthylène, par exemple, en ajoutant un peu de chlorure de magnésium ou de baryum, à l'alcool employé comme fixateur... ». (Legendre, loc. cit.).

DEUXIÈME PARTIE

Exposé de nos recherches

Nous nous excuserons d'être obligé d'ouvrir une parenthèse au début de cette seconde partie de notre mémoire. Nous nous étions, d'abord proposé de ne faire entrer dans l'exposé de nos recherches que la simple relation de nos expériences à l'exclusion de tout commentaire, nous réservant de comparer nos résultats à ceux des auteurs et de les discuter dans la troisième partie de cette thèse. Mais comme la plupart des expériences se traduisent, en définitive, par des *données numériques*, ce plan nous eût obligé ou de répéter ces dernières pour les comparer et les commenter, ou d'obliger le lecteur à se reporter à chaque instant aux nombreux tableaux de chiffres qui vont être établis dans les pages suivantes. C'est pour éviter au lecteur cette fastidieuse besogne que nous avons essayé de répondre, chemin faisant, à la première question que nous nous sommes posée au début de nos recherches (1) : les variations de poids subies par les tissus musculaire et nerveux immergés dans certaines solutions salines sont-elles conditionnées par des phénomènes osmotiques ?

Dans la troisième et dernière partie de ce mémoire nous verrons s'il est possible de faire rentrer nos résultats dans le cadre des théories émises par les biologistes qui ont traité la question.

(1) Voir introduction.

CHAPITRE PREMIER

Imbibition du tissu musculaire

Matériel et technique opératoire. — Nous avons vu dans le cours du chapitre IV que les expériences de Lœb sur l'action des sels minéraux l'avaient amené à conclure que les trois sels les plus importants pour l'entretien de la vie des cellules étaient les chlorures de sodium, de potassium et de calcium. C'est sur ces trois sels qu'ont porté nos recherches.

Les expériences que nous allons consigner tout d'abord ont été faites sur des *gastrocnémiens de grenouille*.

Ces muscles étaient excisés avec soin au niveau des insertions tendineuses, et au ras de l'os. Ils étaient ensuite rapidement et légèrement épongés avec du papier-filtre Fontaine, puis pesés et enfin immergés dans la solution en expérience. Après un temps donné, le muscle était sorti de la solution, épongé de nouveau, pesé et remis dans la solution. Cette méthode est précise à 10 milligrammes près (1).

Action d'une solution neutre (2), de NaCl à 7 : 1000, dite isotonique au gastrocnémien (J. Lœb). Désaccord entre les résultats de J. Lœb, d'Overton et les nôtres. — Comme nous nous proposons d'étudier les variations de poids produites par des solutions de NaCl sur le muscle gastrocnémien, il était tout naturel de partir d'une solution de NaCl à 7 : 1.000, puisque, selon Lœb, Overton et Nasse (3), cette solution isotonique au muscle laissait son poids inchangé. Mais, dès nos premières pesées, nos résultats se montrèrent en désaccord avec ceux de nos devanciers.

Voici, en effet, les changements de poids présentés par un gastrocnémien de grenouille immergé dans une solution de NaCl à 7 : 1.000. Température 18° C.

(1) C'est la méthode indiquée par J. Lœb et utilisée par Overton, Fletcher, Laugier et Bénard.

(2) La neutralité rigoureuse de nos solutions a été vérifiée au moyen d'une solution de teinture de tournesol extrêmement sensible.

(3) Voir chapitre V.

EXPÉRIENCE I

Poids du muscle avant son immersion, 23 centigr. 5.

Augmentation de poids du muscle en pour cent de son poids initial :

Après 1 h. d'immersion		+ 21 p. 100
» 14 h.	»	+ 46 »
» 19 h.	»	+ 50 »

Inconstance des variations de poids observées sur des gastrocnémiens immergés dans une même solution de NaCl à 7 : 1000 ; temps, 18° C. Frappé des résultats de notre première expérience, nous avons tenu à nous assurer si leur divergence avec ceux de J. Lœb ne tenaient pas à une faute opératoire quelconque de notre part, ou bien si vraiment les gastrocnémiens réagissaient d'une façon si différente vis-à-vis d'une même solution. Les expériences 2 et 3 vont nous montrer que c'est cette dernière hypothèse qui fut confirmée par l'expérience.

EXPÉRIENCE 2

On prépare avec le plus grand soin une solution de NaCl à 7 : 1.000, rigoureusement neutre. On verse 20 centimètres cubes de cette solution dans trois verres destinés à recevoir chacun un gastrocnémien provenant de grenouilles différentes. Température ambiante 18° C. Voici le résultat des pesées faites d'heure en heure pendant les premiers temps de l'expérience :

Poids des muscles en centigr. avant leur immersion.	Muscle a.	Muscle b.	Muscle c.
	23,5	42,	37,5
Augmentation de poids en p. 100 du poids initial après 1 h. d'immersion	poids invar.	+ 10 %	+ 6 %
2 h.	+ 4,2 %	+ 14 »	+ 6,7 %
4 h.... »	»	+ 19 »	+ 14,6 »
11 h.... »	»	»	»
14 h.... »	»	»	»
20 h.... »	»	»	»
29 h.... »	+ 29 %	»	»

Ainsi, sur trois muscles préparés de la même façon et immergés dans la même solution, l'un (muscle a) reste invariable pendant la première heure (c'est ce mode de réaction qu'avaient observé Lœb, Nasse et Overton) ; le second (muscle b) subit une augmentation de poids de 10 p. 100 et enfin le troisième (muscle c), une augmentation de 6 p. 100.

En ce qui concerne la vitesse avec laquelle les muscles atteignent leur maximum de poids, elle est plus variable encore que les changements de poids. Tandis, en effet, que les muscles *b* et *c* atteignent leur maximum après 4 heures d'immersion, et que ce maximum reste invariable, le muscle *a* conservé pendant 18 heures (de la 2^e à la 20^e heure), sa légère augmentation de poids de 4,2 p. 100, pour augmenter rapidement de la 20^e à la 29^e heure.

Bien que ces faits semblent montrer d'une façon irréfutable l'inconstance des variations de poids subies par des gastrocnémiens immergés dans une même solution, il y a cependant un fait qu'il nous paraît intéressant de relever : c'est la très grande différence entre les maxima observés dans cette expérience 2 et le maximum noté dans l'expérience 1. On se rappelle que dans celle-ci, nous avons noté au bout de la première heure, une augmentation de 21 p. 100 qui atteignait un maximum de 50 p. 100 à la 19^e heure. Or, dans l'expérience 2, les 3 muscles subissent une augmentation de poids maxima de 14 à 19 p. 100, après n'avoir augmenté que de 6 à 10 p. 100 au bout de la première heure (*b* et *c*), ou même après être resté sans changement pendant cette première heure (*a*). Une telle différence dans les résultats fit que nous nous demandâmes s'il n'y avait pas eu quelque erreur dans la préparation de la solution de l'expérience 1, et nous préparâmes une troisième solution à 7 p. 1.000, pour y immerger 3 nouveaux gastrocnémiens.

Voici les résultats fournis par cette 3^e expérience :

EXPÉRIENCE 3

Poids des muscles en centigr. avant leur immersion.	Muscle d	Muscle e	Muscle f
	42	57	26
Augmentation de poids en p. 100 du poids initial.			
après la 1 ^{re} heure d'immersion	+ 8 p. 100	+ 14 p. 100	+ 20 p. 100
» 2 ^e »	+ 11 »	+ 20 »	+ 21 »
» 3 ^e »	+ 13 »	+ 24 »	+ 30 »
» 4 ^e »	»	+ 26 »	+ »
» 5 ^e »	»	+ 28 »	+ 31 »
» 11 ^e »	+ 14 »	+ 30 »	»
» 14 ^e »	»	+ 30 »	»
» 20 ^e »	+ 18 »	+ 33 »	»

On remarquera tout d'abord combien les résultats sont divergents. Tandis que le muscle *d* n'augmente que de 8 p. 100 dans la première heure, le muscle *f* présente une augmentation de poids de 20 p. 100. Ce dernier atteint *presque* son maximum au bout de la 3^e heure, alors que le muscle *e* augmente progressivement à partir du moment où on l'immerge jusqu'à la 20^e heure.

Si, d'autre part, on compare les chiffres de cette troisième expérience à ceux fournis par les deux expériences antérieures, on constate que le comportement du muscle *d* est assez comparable à celui du muscle *b* dans l'expérience 2 : dans les deux cas, l'augmentation de poids est à peu près la même au bout de la 1^{re} heure (8 et 10 p. 100) ; dans les deux cas, aussi, le maximum est le même (18 et 19 p. 100). En revanche, le muscle *f* se comporterait plutôt comme dans l'expérience 1 ; l'augmentation de poids pendant la première heure est la même (20 p. 100). Mais quoique cette augmentation atteigne 30 p. 100 dès la 3^e heure, le maximum ne dépasse pas 31 p. 100 à la 20^e heure.

Il est donc évident que les différences observées dans les augmentations de poids des divers muscles, ne tiennent pas à quel'querreur dans la préparation des solutions, puisque sur trois muscles immergés dans *une même solution* (Expérience 3), l'un (*d*) se comporte comme dans l'expérience 2 et l'autre (*f*) comme dans l'expérience 1. On voit à quelles erreurs on s'exposerait en analysant insuffisamment les phénomènes d'imbibition présentés par le tissu musculaire de la grenouille. Un expérimentateur qui ne s'appuierait que sur une des trois expériences relatées plus haut pourrait, tout aussi bien prétendre, avec J. Lœb, qu'un gastrocnémien plongé dans une solution de NaCl à 7 : 1.000, reste inchangé au début de l'expérience et ne subit qu'une faible augmentation de poids après 20 heures d'immersion (muscle *a*, Expérience 2), — ou bien, au contraire, qu'un muscle immergé dans une telle solution subit, dès les premières heures, une notable augmentation de poids qui atteint jusqu'à 50 p. 100 à la 19^e heure (Expérience 1).

Afin de mieux mettre nos résultats en relief, nous avons établi le graphique suivant :

Planche I

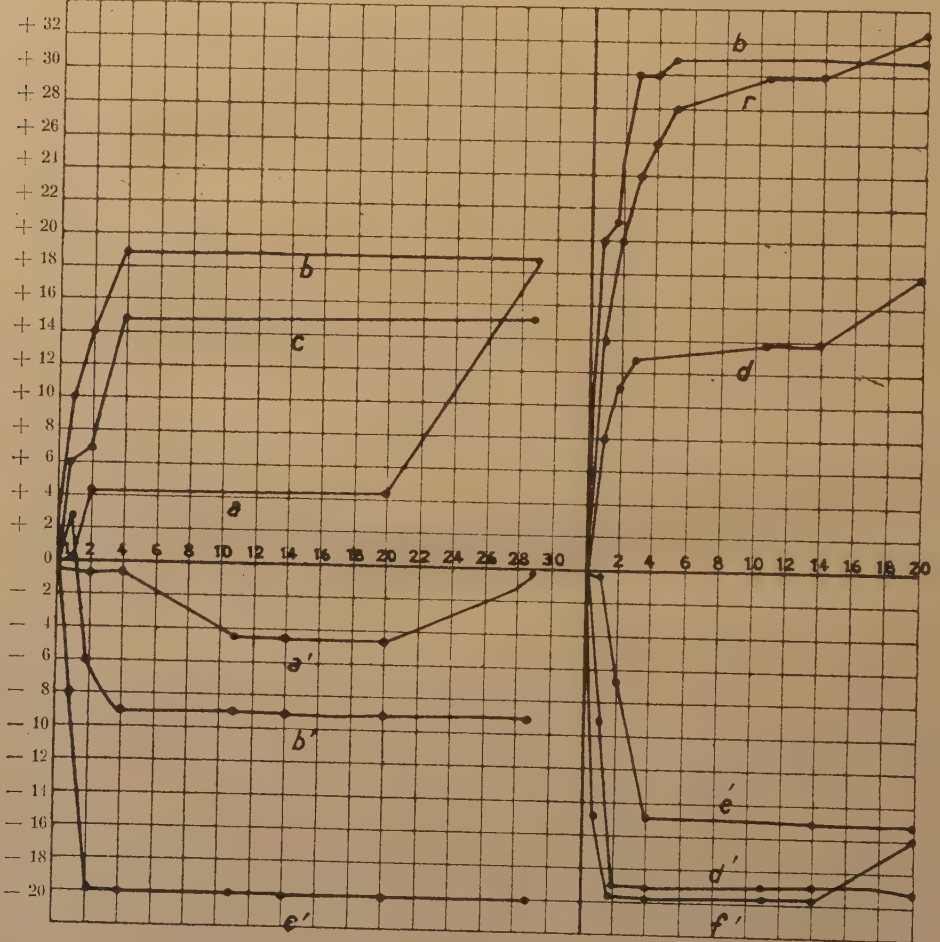
EXPÉRIENCE 2

Gastrocnémiens immergés dans une même solution
de NaCl $\frac{\text{N}}{8}$ (7 p. 17000).

EXPÉRIENCE 3

Gastrocnémiens immergés dans
une même solution de NaCl $\frac{\text{N}}{8}$.

Variations de Poids en pour cent du poids Initial



Gastrocnémiens homologues de abc immergés dans
une même solution de CaCl_2 $\frac{\text{N}}{8}$.

Gastrocnémiens homologues de def
immergés dans une même solution
de CaCl_2 $\frac{\text{N}}{8}$.

Comparaison de nos résultats avec ceux obtenus par les différents auteurs précédemment cités (1). — Un simple coup d'œil jeté sur le graphique de la planche 1, montre combien nos résultats diffèrent de ceux de J. Lœb et d'Overton.

J. Lœb déclare, en effet (2), que dans une solution de NaCl à 7 : 1.000 ou dans une solution équimoléculaire de NaI ou de NaBr , un muscle ne change pas de poids pendant 18 heures ; « l'augmentation, quand elle a lieu, ne dépasse pas une moyenne de 7 p. 100 du poids initial. » Notons, incidemment, que cette dernière remarque de Lœb prouve l'inconstance des phénomènes d'imbibition observés sur le muscle, puisque ce dernier peut ne pas changer de poids pendant 18 heures, ou, au contraire, augmenter de 7 : 100 de son poids initial. Or, sur 7 muscles que nous avons immergés dans NaCl à 7 : 1.000, aucun n'a gardé le même poids ; et, à l'exception d'un seul d'entre eux (muscle *a*, Expérience 2), tous les muscles ont subi une augmentation de poids *notable* dès le début de leur immersion.

Overton admet, comme Lœb, qu'un muscle vivant non lésé immergé dans NaCl à 7 : 1.000, ne change pas de poids (3). Cela tiendrait, selon cet auteur, à ce que le muscle doit être considéré comme un système osmotique entouré d'une membrane semi-perméable, et à ce que la pression osmotique d'une solution de NaCl à 7 : 1.000, annule exactement la pression en sens inverse exercée par le contenu musculaire (4). Or, il semble, au contraire, d'après nos expériences, qu'il y ait dans le cours des phénomènes d'imbibition subis par les muscles gastrocnémiens immergés dans NaCl à N (7 : 1.000), l'intervention *d'autres facteurs* que la pression osmotique, puisqu'une même solution, dans laquelle on immerge différents muscles (Expérience 3), n'imprime pas à ces derniers la même variation de poids, ce qui devrait être le cas si le muscle pouvait être assimilé à un système osmotique *affecté d'une pression invariable*.

Quelle est la nature de ces autres facteurs ? Nous ne le

(1) Voir aussi chapitre V.

(2) Chapitre V, page 218.

(3) Cependant Overton semble apporter, comme Lœb, certaines restrictions à cette affirmation : Voyez chap. V, page 238 § 8 et note I.

(4) Chap. V, page 234.

savons pas d'une façon certaine ; mais il est possible que les différences observées dans le degré d'imbibition subie par les divers muscles soient liées, en partie, à l'état fonctionnel de ces derniers, avant leur excision.

En effet, dès 1865, Ranke (1) avait constaté qu'un muscle immergé, après avoir été *fatigué*, prenait de l'eau dans des solutions salées, tandis qu'un muscle *reposé* n'en prenait pas. Nous avons vu que, selon cet auteur, l'imbibition du muscle fatigué serait due à des produits de dissociation (*Spaltungsprodukte*), qui résulteraient de l'activité musculaire. Lœb, en 1898 (2), devait reprendre la même hypothèse, mais en ajoutant que cette « fragmentation secondaire » avait pour cause la présence d'ions H^+ provenant de l'*acidification du muscle, par suite de son travail*.

Enfin, Mlle Cook reprit également les expériences de Ranke et confirma les résultats de cet auteur.

Bien qu'Overton (3) et Fletcher (4) aient contesté l'hypothèse de Lœb, ils n'en reconnaissent pas moins le fait qu'un muscle fatigué subit une augmentation de poids supérieure à celle que subit un muscle au repos. C'est peut-être ce qui expliquerait qu'un gastrocnémien immergé dans de l'*eau distillée*, ait subi, au bout de 5 heures, une imbibition moindre que deux gastrocnémiens *immergés pendant le même temps* dans une solution de $NaCl$ à 7 : 1.000 (bien qu'à partir de la 7^e heure, le muscle imbibé dans l'eau soit beaucoup plus imbibé que celui immergé dans $NaCl$).

Voici les augmentations de poids subies par un muscle immergé dans de l'eau distillée, et celles qu'avaient subi, pendant le même temps, deux muscles immergés dans $NaCl$ à 7 : 1.000.

EXPÉRIENCE 4

Augmentation en p. 100 du poids initial après une immersion de :	Eau distillée	$NaCl$ à 7 : 1000 $\left(\frac{N}{8}\right)$	
		Muscle e (Exp. 3)	Muscle f (Exp. 3)
5 h. : + 25	p. 100	28 p. 100	31 p. 100
7 h. : + 50	»		
14 h. : + 49	»		

(1) Voyez chap. V, page 232.

(2) Voyez chap. V, pages 221 et suivantes.

(3) et (4) Voyez chap. V.

Quelle que soit l'explication de ces faits, comme il est impossible de faire tenir les muscles d'une grenouille au repos, avant de la sacrifier, on conçoit que ces muscles ne puissent fournir que des indications sujettes à caution (1) dans l'étude des phénomènes d'imbibition. C'est la raison pour laquelle nous nous sommes adressé à un autre tissu (le tissu nerveux), dont les phénomènes d'imbibition sont, en général, remarquablement constants. Toutefois, avant d'exposer nos résultats sur l'imbibition du tissu nerveux, nous allons, à titre simplement comparatif, relater encore quelques expériences faites sur le tissu musculaire de la grenouille.

Action du K sur l'imbibition des muscles de grenouille.

EXPÉRIENCE 5

Quatre gastrocnémiens g , g' et h , h' , provenant de deux grenouilles G et H, sont immergés chacun dans 20 centimètres cubes de liquide, provenant d'une même solution de KCl à $\frac{N}{8}$, c'est-à-dire équimoléculaire à une solution de NaCl à 7 : 1.000.

Les pesées faites aux mêmes temps que dans les expériences 2 et 3, fournissent les chiffres suivants :

	Muscles	Grenouille G		Grenouille H	
		g .	g'	h	h'
Poids initial.		30 centigr.	29,5	49,5	50
Augmentation de poids après	1 heure	16 p. 100	20 p. 100	12 p. 100	10 p. 100
»	2	» + 30	» + 33,8	» + 21	18
»	4	» + 38,3	» + 50	» + 31	27
»	5	» + 43,5	» + 54	» + 33	30
»	14	» + id.	» + 59	» + »	»
»	20	» + id.	» + 69	» + 37	36

On remarquera, comme dans les expériences 2 et 3, les

(1) Fletcher ne fait-il pas observer (voyez chap. V page 246), que les phénomènes d'imbibition varient selon que l'on opère sur des grenouilles de printemps ou sur des grenouilles d'automne.

différences qui existent dans les augmentations de poids subies par les différents muscles.

Ainsi, le muscle *g* atteint, au bout de cinq heures, son maximum d'augmentation qui est de 43 p. 100, alors que son homologue *g'* accuse au même temps (après 5 h. d'immersion), une augmentation de 54,2 p. 100, qui atteint 69 p. 100 à la 20^e heure. Par contre, l'augmentation des muscles *h* et *h'* ne dépasse pas, après 20 heures d'immersion, 36 et 37 p. 100, *bien que le poids initial de ces muscles soit très supérieur à celui des muscles g et g'.*

Remarquez encore que si les muscles *h* et *h'* subissent des variations de poids très différentes de celles des muscles *g* et *g'*, les courbes établies avec les chiffres de *h* et *h'* seraient très près l'une de l'autre, tandis que celles qui répondraient aux muscles *g* et *g'* suivraient (surtout à partir de la 4^e heure), un trajet sensiblement différent. C'est ce qui explique, sans doute, la discordance entre les conclusions émises par les différents auteurs.

Comparaison de nos résultats avec ceux des auteurs. — Loeb (1) dit qu'un muscle immergé dans une solution de KCl isotonique à une solution de NaCl à 7 : 1.000, subit une augmentation d'environ 40 p. 100 de son poids initial, mais que pendant les premières heures, son poids reste invariable. Cette opinion, soutenue également par Overton, n'est pas d'accord avec nos expériences. Ces dernières nous amènent aux conclusions suivantes :

1° Un muscle immergé dans une solution de KCl à $\frac{N}{8}$ augmente de poids dès le début de l'immersion ; et cette augmentation se poursuit, le plus souvent (*g', h, h'*) jusqu'à la 20^e heure.

2° Malgré les différences observées dans l'augmentation de poids subie par les muscles, *cette augmentation a toujours été considérable, dès le début de l'immersion.*

3° Le maximum de poids atteint d'une façon constante des chiffres qui ne sont jamais atteints par les muscles immergés dans NaCl à $\frac{N}{8}$.

(1) Voir chap. V, page 219.

Action du Ca sur l'imbibition des muscles de grenouille.

EXPÉRIENCE 6

(Cette expérience a été faite le même jour que les expériences 2 et 3, ce qui nous a permis de comparer l'action du NaCl et du CaCl², sur les muscles homologues d'une même grenouille).

On prépare une solution de CaCl² à 13,282 : 1.000, égale à $\frac{N}{8}$, c'est-à-dire équimoléculaire à NaCl à 7 : 1.000. Comme dans les expériences 2 et 3, on prépare 6 verres contenant chacun 20 centimètres cubes de cette solution de CaCl², et on immerge les 6 gastrocnémiens a' b' c', d' e' f', appartenant aux grenouilles qui nous avaient fourni les muscles a b c, d e f, dans les expériences 2 et 3.

Voici les résultats de l'expérience :

		Grenouille A		Grenouille B		Grenouille C	
		CaCl ²	NaCl	CaCl ²	NaCl	CaCl ²	NaCl
Muscles		a'	a	b'	b	c'	c
Après	1 heure	±0	±0	+ 3,6 %	+ 10 %	— 8 %	+ 6 %
	2 »	±0	+ 4 %	— 6	+ 14	— 20	+ 6,7
	4 »	±0	»	— 9	+ 19	»	+ 14,6
	11 »	— 4,3 %	»	»	»	»	»
	14 »	— 4,3	»	»	»	»	»
	20 »	— 4,3	»	»	»	»	»
	29 »	±0	+ 19 %	»	»	»	»

		Grenouille D		Grenouille E		Grenouille F	
		CaCl ²	NaCl	CaCl ²	NaCl	CaCl ²	NaCl
Muscles		d'	d	e'	e	f'	f
Après	1 heure	— 9 %	+ 8 %	± 0	+ 14 %	— 15,4 %	+ 20 %
	2 »	— 18,8	+ 11	— 6,8 %	+ 20	— 19	+ 21
	4 »	»	+ 13	+ 15,5	+ 26	»	+ 30
	11 »	»	+ 14	»	+ 30	»	+ 31
	14 »	»	»	»	+ 30	»	»
	20 »	»	+ 18	»	+ 33	— 15,4	»

Ces chiffres nous suggèrent les réflexions suivantes :

1° Les variations de poids subies par les muscles immergés dans une solution de CaCl_2 , équimoléculaire à NaCl 7 : 1.000, sont extrêmement variables. Ce fait est surtout apparent pour les muscles a' b' c' . Ainsi, pendant les premières heures, le muscles a' reste invariable, et le muscle b' subit une légère augmentation de poids, tandis que le muscle c' subit, dès la première heure, une *diminution de poids* de 8 p. 100.

2° On peut cependant affirmer que tout muscle immergé dans CaCl_2 à $\frac{\text{N}}{8}$ (équimoléculaire à NaCl 7 : 1.000), subit une diminution de poids.

En général, cette diminution de poids se produit immédiatement : elle a eu lieu 3 fois sur 6 (muscles c' d' f'), pendant la première heure ; une fois (muscle e') entre la première et la deuxième heure ; dans un cas (muscle a') elle n'a commencé qu'après la quatrième heure ; enfin, pour le sixième muscle (b'), la diminution de poids a été précédée d'une très légère augmentation de poids. Notons encore que deux fois (muscles a' et b'), la diminution de poids a été suivie d'une *réimbibition* du muscle. Nous verrons bientôt que lorsque les solutions ont atteint une concentration suffisamment élevée, cette réimbibition est la règle, quel que soit le sel employé.

3° Il n'est pas possible d'établir un rapport quantitatif entre l'augmentation de poids subie par le tissu musculaire imbibé dans NaCl à 7 : 1.000 et la diminution de poids subie par ce même tissu, dans une solution de CaCl_2 équimoléculaire à la première. Ainsi, le tissu musculaire de la grenouille A, qui subissait une *légère* augmentation de poids dans NaCl , subit également une très légère diminution de poids dans CaCl_2 . Mais, d'autre part, le tissu musculaire de la grenouille C qui subissait dans NaCl une augmentation *moindre* que le muscle b , subit dans CaCl_2 , une diminution *plus forte* que le muscle b' .

4° Enfin, point n'est besoin d'insister sur le point capital qui ressort de nos pesées ; c'est qu'il est impossible d'attri-

buer les variations de poids observées à des phénomènes osmotiques.

Si, en effet, le muscle pouvait être comparé à un « système osmotique », limité par une membrane semi-perméable, comme le prétend Overton, il serait impossible d'expliquer que des solutions équimoléculaires (1) de NaCl , KCl et CaCl^2 à $\frac{N}{8}$ produisissent les unes (NaCl et KCl), une augmentation de poids, et l'autre (CaCl^2), une diminution de poids du tissu musculaire.

Nous ne pouvons davantage nous rallier aux conclusions de Loeb qui affirme (voir page 219, chap. V), que le changement de poids subi par des muscles imbibés dans des solutions salines de NaCl , KCl et CaCl^2 isotoniques à une solution de NaCl à 7 : 1.000, est insensible pendant la première heure. Nos recherches montrent, au contraire, que la marche du phénomène se dessine et diffère dès le début de l'immersion des muscles, dans les diverses solutions.

Dans une solution de NaCl , il y a toujours augmentation de poids : celle-ci commence dès le début. A part une seule exception (muscle a), l'augmentation de poids est notable dès la première heure et atteint 6 à 20 p. 100 du poids initial (2).

Dans une solution de KCl équimoléculaire à la précédente, il y a également toujours augmentation de poids. Cette augmentation est toujours supérieure à celle qui se produit dans une solution de NaCl (3). Elle n'est jamais inférieure à 10 p. 100 du poids initial dès la fin de la première heure.

Enfin, dans une solution de CaCl^2 , il y a toujours diminu-

(1) La dissociation en ions n'étant pas exactement de même grandeur pour les chlorures de Na, K et Ca, on pourrait, au premier abord, objecter que des solutions équimoléculaires de ces sels ne sont pas isotoniques entre elles. C'est vrai théoriquement ; mais pratiquement, dans les expériences qui nous concernent, il n'y a pas de différence assez sensible entre l'équimolécularité et l'isotonie de ces solutions pour que nos résultats soient infirmés dans les grandes lignes. C'est parce que Loeb avait expérimenté sur des solutions équimoléculaires que nous avons fait de même, à fin de pouvoir comparer nos résultats aux siens.

(2) A part le cas unique de l'expérience 4, où le muscle immergé dans l'eau distillée a perdu du poids après avoir atteint son maximum de gonflement, nous n'avons pas observé sur les autres muscles cette chute consécutive au maximum. Nous verrons, au contraire, que dans l'imbibition du tissu nerveux, le maximum de poids est toujours suivi d'une diminution de poids (du moins dans les solutions de concentration inférieure à $\frac{N}{0,8}$ (NaCl à 70 : 1.000)).

(3) Sauf dans le cas unique de l'expérience I où le muscle immergé dans NaCl à 7 : 1.000 augmente de 50 p. 100 à la 19^e heure.

lion de poids. Cette diminution peut quelquefois ne se manifester que dans la 2^e ou 3^e heure ; mais, le plus souvent, elle se manifeste d'emblée. Il ne nous est donc pas possible d'admettre avec Lœb que les muscles immergés dans des solutions salines se comportent d'abord comme s'ils n'étaient perméables qu'à l'eau et qu'ils ne manifestent que plus tard les effets de la pénétration des sels (chapitre premier, page 219).

Nous sommes évidemment en présence de faits qui échappent aux lois habituelles de l'osmose. Pour que trois solutions salines à *égale concentration moléculaire* impriment à un même tissu des variations de poids aussi différentes, il faut, de toute évidence, que chaque sel exerce par lui-même une action spécifique sur le tissu imbibé. Il faut qu'il y ait interaction entre le tissu et le sel de la solution. En quoi consiste cette interaction ? Nous reviendrons sur ce sujet lorsqu'après avoir exposé l'ensemble de nos recherches, nous essayerons d'en tirer quelques conclusions.

Avant d'aborder l'étude des phénomènes d'imbibition du tissu nerveux, nous allons étudier l'action des solutions de NaCl , KCl et CaCl^2 à haute concentration, sur le gastrocnémien de la grenouille.

Imbibition du tissu musculaire dans des solutions de NaCl , KCl et CaCl^2 hypertoniques et équimoléculaires entre elles. —

EXPÉRIENCE 7

La concentration choisie était égale à N, c'est-à-dire à :

58,5 p. 1.000 pour la solution de NaCl .	
74,5	— KCl .
111	— CaCl^2 .

Les muscles immergés appartenaient à 6 grenouilles :

I. K. L. M. N. O.

Les 3 premières grenouilles fournirent les muscles *i*, *k*, *l*, immergés dans NaCl à N., et les muscles *i'*, *k'*, *l'* immergés dans KCl équimoléculaire. Les 3 dernières grenouilles fournirent les muscles *m*, *n*, *o* immergés encore dans NaCl à N et les muscles *m'*, *n'*, *o'* immergés dans CaCl^2 équimoléculaire.

Voici les résultats de nos pesées :

NaCl				N			KCl			N		
				i	k	l				i'	k'	l'
Après	1 heure	-12,5	-10	-11	p.100	✓	-7,5	-11,6	-11,6			
	2 »	-12,5	-6	-10			-2,5	-9	-11,6			
	3 »	-7,5	-2,4	-6			+0	-5,8	-9,7			
	4 »	-5	+2,4	-4			+2,5	-3,4	-6,8			
	5 »	± 0	+6	± 0			+4	± 0	-4			
	7 »	+4	+10	+3			+6	+4	+2			
	19 »	+16,5	+25	+27			+17	+18,5	+22			
	22 »	+22	+29	+30			+22	+25	+26			
	26 »	+25	+32	+36			+25	+28	+34			

(Tous ces muscles augmentent encore légèrement de poids jusqu'à la cinquantième heure).

NaCl				N			CaCl ²			N		
				m	n	o				m'	n'	o'
Après	1 heure	-15	-15	-12	p.100	✓	-15	-14	-11			
	2 »	-12	-13	-6			-14	-9	-9			
	3 »	-10	-10	± 0			-13	-7	± 0			
	4 »	-6	-6	2			-10	-4	1			
	5 »	-4	± 0	+6			-7	+3,4	+4			
	7 »	+2,2	+5,2	+12			± 0	+8,6	+13			
	19 »	+18	+29	+32			+11	+26	+33			
	22 »	+24	+32	34			+16	+31	+30			
	26 »	+27	+38	+40			+22	+31	+34			

Il suffit de jeter un coup d'œil sur les chiffres que nous venons de relever, pour voir que le fait dominant de cette expérience est le suivant : quelle que soit la nature de la solution dans laquelle les muscles ont été immergés, ces derniers subissent immédiatement une diminution de poids suivie d'une réimbibition qui, non seulement fait rapidement récupérer au muscle son poids initial, mais le fait atteindre une augmentation de poids considérable par rapport à ce poids initial.

Afin de mettre un peu d'ordre dans nos observations, divisons notre étude en 3 parties et étudions les variations de poids,

- 1° à la période de descente,
- 2° au point de rebroussement,
- 3° à la période de réimbibition.

1° *Période de descente.* — a) Elle débute, nous insistons sur ce point, *immédiatement*, et n'est jamais précédée ni d'une période de poids invariable, ni d'une période d'augmentation de poids.

b) Quel que soit le sel employé, la période de descente s'arrête à la fin de la *première heure*. A partir de ce moment (point de rebroussement), les muscles subissent toujours une réimbibition.

c) Tandis que dans les solutions de concentration $= \frac{N}{8}$, les pesées indiquaient des écarts considérables, entre les variations de poids subies par des muscles immergés dans une même solution, et, à plus forte raison, par des muscles immergés dans des solutions différentes, nous remarquons que, dans les solutions hypertoniques, les chiffres fournis par nos pesées sont très voisins les uns des autres, *quel que soit l'électrolyte employé*, pourvu que l'on examine les muscles, aux mêmes temps. Ainsi les muscles *i, k, l*, immergés dans NaCl subissent, après une heure, une diminution de poids qui oscille dans les étroites limites de — 10 à — 12,5 p. 100 ; les muscles *i', k', l'*, homologues des précédents et immergés dans KCl équimoléculaire, terminent également leur descente au bout de la première heure. Une fois (*i'*) la diminution de poids ne dépasse pas — 7,5 p. 100, mais deux fois (*k'* et *l'*) elle est de — 11,6 p. 100, c'est-à-dire sensiblement la même que dans NaCl.

2° *Point de rebroussement.* — d) Si nous comparons les muscles *m, n, o* (NaCl N), aux muscles homologues *m', n', o'* (CaCl² N), nous remarquons également que les uns et les autres arrivent à leur point de rebroussement après la première heure. Ce point de rebroussement répond à une diminution de poids qui varie entre — 12 et — 15 p. 100 pour les muscles immergés dans NaCl N et entre — 11 et — 15 p. 100 (c'est-à-dire presque dans les mêmes limites), pour ceux immergés dans CaCl² N.

e) Enfin, notons ce fait curieux ; c'est que la diminution

de poids qui dépassait 1 fois sur 6 — 15 p. 100 dans CaCl^2 à $\frac{\text{N}}{8}$ ne dépasse jamais ce chiffre dans CaCl^2 à N.

3° *Période de réimbibition.* — f) Enfin, les courbes représentant la période de réimbibition sont également très voisines les unes des autres et semblent peu influencées par la nature du sel en *concentration hypertonique*. Ainsi le muscle *o* (NaCl à N), récupère son poids initial après la 3^e heure, ce qui est le cas de son homologue *o'* dans CaCl^2 à N ; les muscles *m* et *n* (NaCl à N), récupèrent également leur poids initial *aux mêmes temps* que les muscles *m'* et *n'* dans CaCl^2 à N.

Si nous comparons les muscles *i*, *k*, *l* (NaCl à N), à leurs homologues *i'*, *k'*, *l'* (KCl à N), nous notons, chose curieuse, que l'écart entre l'action du Na et du K est plus grand que l'écart observé entre l'action du Na et celle du Ca, ce qui était le contraire quand nous opérions avec des solutions de NaCl , KCl et CaCl^2 à $\frac{\text{N}}{8}$. Nous remarquons encore, qu'à partir de la 19^e heure, les muscles immergés dans NaCl à N subissent une réimbibition un peu plus forte que ceux immergés dans KCl à N, alors, qu'au contraire, l'augmentation de poids était toujours et sensiblement supérieure dans KCl que dans NaCl à $\frac{\text{N}}{8}$.

En résumé, les résultats de nos expériences sur les solutions de NaCl , KCl et CaCl^2 hypertoniques (de concentration = à N), nous conduisent à des conclusions presque opposées à celles que nous formulons après avoir expérimenté sur les mêmes solutions lorsqu'elles étaient affectées d'une concentration = à $\frac{\text{N}}{8}$. Là, nous insistions sur la discordance des résultats obtenus, non seulement avec des solutions de sels différents, mais encore sur des muscles immergés dans une même solution ; ici, nous sommes frappés de la concordance des pesées faites aux mêmes heures sur les muscles immergés dans des solutions de différents sels. Nos premières expériences — sur les solutions de concentration = à $\frac{\text{N}}{8}$ —

nous avaient amené à admettre une action spécifique exercée par chaque sel sur les phénomènes d'imbibition ; nos dernières expériences — sur les solutions hypertoniques — ne nous révèlent que des différences à peine sensibles dans l'action des divers sels. Bien plus, il semble que lorsqu'une solution a atteint une certaine concentration, N par exemple, cette solution produise très rapidement — au bout d'une heure — une action telle sur les cellules que celles-ci deviennent subitement perméables à la solution hypertonique qui les baigne, et cela, quelle que soit la nature du sel entrant dans la solution.

Est-il besoin de faire observer que cette réimbibition des tissus dans des solutions très concentrées, est difficilement conciliable avec les lois habituelles de l'osmose.

Cependant, on se rappelle que P. Girard (1) a étudié spécialement certains phénomènes osmotiques dans lesquels le sens de l'osmose, au lieu de dépendre de la différence de pression osmotique, entre les liquides séparés par la membrane, dépendrait de l'état électrostatique de cette dernière. Nous avons longuement (2) analysé les intéressantes communications de P. Girard ; nous nous contenterons d'en rappeler les points essentiels. Cet auteur immerge des globules rouges dans une solution de saccharose et note leurs dimensions. Il constate, en même temps que la paroi globulaire est affectée d'une charge électrique négative. Or, en acidifiant la solution ambiante, la charge de la paroi globulaire s'inverse en même temps que le volume des globules augmente, malgré l'augmentation de concentration du milieu extérieur. Les différents sels hydrolysables dont les solutions sont acides, se comportent comme les acides. C'est l'ion H qui est actif. « Ces faits décèlent à travers la paroi globulaire, l'existence de phénomènes d'osmose électrique, conditionnés par les deux facteurs suivants : 1° le champ correspondant à la différence de potentiel, dont le système (ici la membrane cellulaire), est le siège d'une face à l'autre ; et 2° le signe électrique des veines liquides contenues dans les espaces capillaires ; le sens du glissement de la veine étant

(1) Voir chap. III. Critique de la théorie lipoïde.

(2) Loc. citato.

déterminé, pour un signe donné de celle-ci, par l'orientation du champ actif, indépendamment de la pression osmotique du milieu. » (1).

Notons d'abord, qu'au point de vue de leur structure périphérique, les globules sanguins occupent une place à part parmi les différents tissus animaux, et que ce qui se passe au niveau de la paroi globulaire, ne saurait être appliqué sans réserve à toutes les cellules. Mais admettons, pour un instant, que les couches superficielles des cellules musculaires répondent au schéma de P. Girard, et qu'elles soient constituées par un assemblage de tubes capillaires, les phénomènes observés par nous sur les muscles de grenouille peuvent-ils être assimilés à ceux observés par P. Girard sur les globules sanguins ?

Examinons d'abord ce qui se passe quand les muscles sont immergés dans des solutions à $\frac{N}{8}$ de NaCl , de KCl et de CaCl_2 .

Les muscles imbibés dans NaCl et KCl subissent D'EMBLÉE *une augmentation de poids* ; les muscles homologues provenant des mêmes grenouilles et imbibés dans CaCl_2 subissent D'EMBLÉE *une diminution de poids*. Pouvons-nous assimiler cette inversion du courant liquide au phénomène mis en lumière par P. Girard ? Quelle que soit la charge électrique affectant la surface des cellules musculaires, elle est la même pour les muscles immergés dans NaCl et KCl que pour ceux immergés dans CaCl_2 . Cette charge ne saurait être influencée par l'acidité ou l'alcalinité des solutions employées, puisque celles-ci sont rigoureusement neutres. Si les muscles ne subissaient des variations de poids *divergentes* qu'après un certain temps, on pourrait peut-être faire l'hypothèse suivante ; on pourrait penser que les actions de Ca d'une part, du Na et de K d'autre part, produisent sur les cellules musculaires, une action chimique, telle qu'il en résulte des produits d'élimination affectés de signes contraires, selon que ces produits proviendraient de l'action de l'un ou de l'autre groupe salin. Ces produits joueraient alors à la surface des cellules musculaires, le rôle que jouent les ions H^+ ou OH^- sur la paroi globulaire ; ils influenceraient alors le signe de

(1) P. Girard. Comptes rendus de l'Académie des Sciences 1913.

la charge électrique de la surface, en changeant ce signe ; et on s'expliquerait ainsi que le courant liquide ait lieu de dehors en dedans quand les muscles sont immergés dans NaCl ou KCl et qu'il soit dirigé de dedans en dehors quand les muscles sont immergés dans CaCl^2 .

Mais ce n'est pas ce qui se produit. Un simple coup d'œil sur nos chiffres et sur la planche I, nous montre que le courant d'eau se dessine en sens opposé dès le début de l'imbibition, dans NaCl et KCl d'une part, et dans CaCl^2 d'autre part ; on voit, de plus, que c'est pendant la première heure que l'entrée ou la sortie de l'eau se font avec la plus grande vitesse. Or, nous le répétons, au début de l'expérience, la charge électrique des parois est évidemment la même pour tous les muscles ; et les solutions, rigoureusement neutres, ne peuvent modifier la charge électrique de la paroi par des ions H^+ ou OH^- . La seule différence qui existe, au point de vue électrique, entre les deux groupes de sels, est que, dans le cas de NaCl et KCl , l'ion positif est monovalent, tandis que dans le cas de CaCl^2 , il est bivalent. Cette différence peut-elle expliquer l'opposition des prétendus courants osmotiques ?

A priori, il semble difficile que l'apport d'ions de même signe (K^+Na^+ et Ca^{++}), puisse produire une osmose électrique de sens opposé. Mais, à la réflexion, on pourrait peut-être faire l'hypothèse suivante : supposons que la surface cellulaire soit chargée négativement, et que cette négativité, par suite de l'état électrique qu'elle conditionne, imprime au courant liquide une direction de dehors en dedans, comme cela arrive quand on plonge le muscle dans de l'eau distillée.

Supposons, maintenant, que l'apport d'ions positifs (cations), diminue la charge négative de la surface cellulaire proportionnellement à la quantité d'ions positifs ajoutés à l'eau distillée ; on conçoit que plus on augmentera le nombre d'ions positifs, plus l'intensité du courant de dehors en dedans diminuera ; et, comme dans les expériences de P. Girard, on conçoit que, pour une certaine valeur de la charge positive, le signe de la charge à la surface cellulaire s'inversera et amènera une inversion du courant liquide.

Or, une solution de CaCl^2 équimoléculaire à des solutions de NaCl et KCl , apporte une charge positive double de celles

qu'apportent ces deux dernières solutions. Ne pourrait-on pas admettre que cette double charge positive apportée par CaCl^F soit suffisante pour inverser le signe de la charge électrique à la surface cellulaire et à amener, par conséquent, une inversion du sens du courant liquide, alors que la charge positive, moitié moins considérable, apportée par les cations Na ou K , ne parvenant qu'à diminuer la charge normalement négative à la surface cellulaire, ne ferait que diminuer l'intensité du courant qui a lieu, dans l'eau pure, de dehors en dedans ?

Nous ferons, tout d'abord, remarquer que le rapport entre les charges électriques apportées par les deux groupes salins est égal à 1 : 2. Ce rapport expliquerait difficilement un écart dans les variations de poids, aussi considérable que celui que nous observons, par exemple, entre les muscles de la grenouille F , qui nous donnent pour le muscle f (immergé dans KCl), une augmentation de poids de + 31, et pour son homologue f' (immergé dans CaCl^F) une *diminution de poids* de = 19.

Mais admettons, pour un instant, que la diminution de poids du muscle f' soit due aux ions positifs bivalents Ca^2 ; nous savons, d'autre part, d'après les recherches de Hooker et Fischer (1), que les muscles et les encéphales immergés dans des solutions salines, présentent bientôt une réaction *acide*. Il va donc s'ajouter à la solution de CaCl^F des ions H^+ , et si la diminution de poids est due à la présence d'ions positifs, cette diminution devra s'accroître avec le temps, c'est-à-dire à mesure qu'il se formera des ions H^+ . Or, c'est le contraire qui se produit. Le muscle s'arrête de diminuer au bout de la deuxième heure, pour garder un poids invariable, ou même, il se réimbibe quelquefois après un certain temps (muscles a' et f'). Comment assimiler ces faits à ceux observés par P. Girard ? Nous ne croyons pas que cela soit possible.

Dans les commentaires que nous venons de faire, nous avons supposé que la surface des cellules était chargée négativement. Si nous avions supposé qu'elle fût chargée positivement, il eût été plus difficile encore d'admettre que

(1) Voir chapitre V.

des ions positifs bivalents, c'est-à-dire affectés du même signe qu'elle, pussent inverser sa charge et la direction du courant osmotique.

Arrivons, maintenant, aux variations de poids observées sur les muscles immergés, dans des solutions de NaCl , KCl et CaCl_2 , très concentrées et équimoléculaires (concentration = à N). Deux hypothèses se présentent à notre esprit pour essayer d'adapter les conclusions de Girard à nos observations.

A. Ou bien, la charge électrique des cations joue dès le début de l'expérience pour expliquer la descente de la courbe (diminution de poids).

B. Ou bien, c'est la haute concentration des solutions qui explique la descente du début et la charge électrique des cations ne joue que pour expliquer le point de rebroussement et la réimbibition des muscles.

Examinons ces deux hypothèses :

1^{re} Hypothèse. — *L'action des cations entre en jeu dès le début et conditionne la diminution de poids.*

Il est évident que cette hypothèse implique deux conséquences.

1^{re} Conséquence :

Plus une solution apportera d'ions positifs, plus la perte de poids devra être considérable.

Ce n'est pas ce qui se produit. Nous avons vu (1) qu'une solution de CaCl_2 à $\frac{N}{8}$ produit une diminution de poids toujours plus considérable qu'une solution de CaCl_2 à N. Ces faits ne sont d'ailleurs pas applicables à tous les tissus. Nous verrons plus loin que lorsqu'on immerge des encéphales dans des solutions salines hypertoniques, la diminution de poids subie par le tissu nerveux est, *pour un même sel*, toujours proportionnelle à la concentration de la solution.

2^e Conséquence :

Si on expérimente sur deux solutions salines équimolécu-

(1) Pour tout ce qui va suivre, voyez pages 299 et suivantes : il est inutile de répéter les chiffres ici.

laïres dont l'une contient un sel à cation monovalent, et l'autre un sel à cation bivalent, cette dernière devra produire une diminution de poids plus considérable.

Ce n'est pas ce qui se produit. Si nous comparons les diminutions de poids subies par des muscles immergés dans des solutions de CaCl_2 , NaCl et KCl , de concentration $\equiv$ à N, nous remarquons que les chiffres fournis par CaCl_2 et NaCl , sont très voisins les uns des autres ; et, fait curieux qui nous paraît avoir ici une importance capitale, l'écart entre les variations de poids imprimés par les cations monovalents K^+ et Na^+ est plus grand que celui qui existe entre les variations de poids imprimées par le cation monovalent Na^+ et le cation bivalent Ca^{++} .

2^e Hypothèse. — Supposons maintenant que la charge électrique des cations ne joue que pour produire l'inversion du sens de l'osmose, c'est-à-dire le point de rebroussement. Il en découle immédiatement la conséquence suivante : puisque ce sont les ions positifs qui conditionneraient l'inversion du sens de l'osmose en inversant le signe de la charge électrique à la surface de la cellule, il est évident que de deux solutions équimoléculaires, dont l'une contient un cation monovalent, et l'autre un cation bivalent, c'est cette dernière (1) qui devrait inverser le signe de la charge électrique et le sens de l'osmose avec le plus de rapidité.

Ce n'est pas ce qui se produit. Dans CaCl_2 comme dans NaCl et KCl , l'inversion se fait *au même temps* (à la fin de la première heure, et après que les muscles ont diminué dans des proportions sensiblement égales (surtout en ce qui concerne les muscles immergés dans NaCl et CaCl_2).

Nous croyons donc que les expériences de Girard, dont nous ne songeons nullement à contester l'intérêt et le mérite, ne peuvent s'appliquer aux phénomènes observés par nous.

En résumé, nos observations sur l'imbibition du tissu musculaire de la grenouille, nous montrent que cette imbibition paraît échapper aux lois de l'osmose. L'existence de phénomènes osmotiques impliquerait une égale imbibition d'un même tissu, dans des solutions salines d'égale concentration.

(1) Tout en tenant compte du coefficient d'ionisation,

C'est précisément ce qui ne se produit pas. Nos pesées montrent que chaque électrolyte (du moins dans des solutions de concentration $= \frac{N}{8}$), semble gréer le tissu musculaire d'une puissance d'imbibition particulière. Il semble qu'il y ait interaction entre les électrolytes des solutions dans lesquelles on immerge le muscle et les tissus de ce dernier. Si cela est vrai, il est à prévoir que la constitution des divers tissus étant différente, l'interaction entre les matériaux tissulaires et les électrolytes apportés par les solutions, doit être également différente, et, par conséquent, que les phénomènes d'imbibition en présence d'une même solution saline, doivent varier d'un tissu à l'autre. C'est ce que vont nous montrer nos recherches sur le tissu nerveux.

CHAPITRE II

Imbibition du tissu nerveux

Matériel et technique opératoire. - C'est, nous l'avons dit, sur des encéphales de passereaux (*loxia orizyvara*), qu'ont porté nos recherches.

Les oiseaux étaient tenus en cage pendant un certain temps, nourris de la même manière, et sacrifiés au moyen d'une pince à artères rapidement serrée autour du cou : la mort est instantanée. Une incision circulaire faite avec précaution autour du crâne permettait de soulever la calotte crânienne en même temps que la dure-mère ; le cerveau et l'encéphale étaient alors rapidement énucléés au moyen d'une fine spatule en os. Les traces de sang étaient épongées avec du papier-filtre Fontaine, et l'encéphale immédiatement immergé. Au moment des pesées, l'encéphale était de nouveau rapidement épongé en le faisant rouler sur le papier-filtre ; puis, il était pesé et immergé à nouveau.

Nos premières recherches portèrent sur l'imbibition du tissu nerveux dans l'eau distillée.

§ I. — Imbibition du tissu nerveux dans l'eau distillée

EXPÉRIENCE 8

Quatre encéphales sont immergés chacun dans 20 centimètres cubes d'eau distillée, température ambiante 12°.

		Encéphales			
		1.	2.	3.	4.
Poids initial		78,5	76,5	75	71 centigr.
Augment. de poids en % du poids initial					
Après	1 heure	32	34	30,6	28 %
	2 »	45	51	46	41
	3 »	53	58	53	51
	4 »	56	62	56	55
	5 »	64	67	57	60
	6 »	53	63	50	60
	7 »	51	57	50	60
	8 »	39	44	40	46
	10 »	39	41	35	42
	12 »	34	26	32	36
	14 »	21	8	20	21
	16 »	17	3	18	15
	19 »	17	± 0	18,5	12
	30 »	8		18	

Remarquons, tout d'abord, combien les résultats sont concordants. Ceci est particulièrement frappant pour les encéphales 1, 2 et 4. L'encéphale 3, bien que s'écartant légèrement des 3 autres, fournit cependant des résultats concordants dans leurs grandes lignes, comme nous allons le montrer.

Nous constatons, en effet, que tous les encéphales subissent, au début, une rapide augmentation de poids suivie d'une diminution de poids. Nous avons donc à étudier :

- 1° une période d'ascension,
- 2° un point maximum,
- 3° une période de descente ou de diminution de poids.

1° *Période d'ascension.* — Elle commence dès le début de l'immersion, et la vitesse d'augmentation de poids est d'autant plus grande que l'on se rapproche du début de l'expérience.

2° *Point maximum. Comparaison avec les phénomènes observés sur le muscle.* — Ce maximum est atteint avec une remarquable constance à la fin de la *cinquième heure*. Il répond une fois sur quatre à une augmentation de poids de 57 : 100 ; et les trois autres fois, il oscille entre les étroites limites de 60 à 67 : 100.

Nous savons (1) que le tissu musculaire immergé dans l'eau

(1) Voir page 296.

n'atteint son maximum qu'à la fin de la *septième* heure, et que ce maximum est sensiblement inférieur à celui atteint par nos encéphales.

3° *Période de descente.* — Dans son ensemble, c'est-à-dire si nous tenons compte des *chiffres extrêmes* de cette descente, cette dernière s'effectue plus lentement que la période ascendante, puisqu'il a suffi de cinq heures pour que l'ascension arrive à son maximum, alors qu'il faut attendre 19 heures et plus pour que les encéphales redescendent à leur minimum d'imbibition. Il y a cependant deux faits sur lesquels nous reviendrons bientôt et sur lesquels nous désirons, dès maintenant, attirer l'attention. Le premier fait est *qu'au début de la période de descente*, pendant les deux premières heures qui suivent le maximum, *la diminution de poids se fait plus rapidement que ne s'était faite l'augmentation de poids pendant les deux heures qui avaient précédé le maximum* (au moins pour les encéphales 1, 2 et 3). Ainsi, de la 3^e à la 5^e heure, ces encéphales augmentent de

11, 9, 4 0/0,

alors que de la cinquième à la septième heure, ils diminuent respectivement de

13, 10, 7 0/0.

Ce fait est d'autant plus important que le tissu musculaire (expérience 4), lorsqu'il a atteint son maximum de poids, ne diminue que *très lentement* (de 1 : 100 en 7 heures !).

Le second point qui nous paraît digne d'attirer notre attention, est la très grande diminution de poids que subissent tous les encéphales, cette diminution de poids pouvant aller jusqu'à la récupération du poids initial (encéphale 2). Ceci dit, nous sommes de nouveau amené à nous demander si nous sommes réellement en présence de phénomènes osmotiques.

Comparaison des phénomènes d'imbibition observés sur les encéphales immergés dans l'eau distillée avec les phénomènes observés avec l'osmomètre de Dutrochet. — Nous avons vu (1) qu'un phénomène osmotique comprend deux phases, une phase ascendante et une phase descendante (ce que,

(1) Chapitre I.

d'ailleurs, nous observons dans nos expériences). « Mais, dit le professeur Dastre — après s'être maintenu quelque temps à sa hauteur maximum, le niveau du liquide intérieur *commence à baisser lentement*... Ce mouvement de dénivellation et de dilution se continue *avec une extrême lenteur* jusqu'à ce que, enfin, la concentration soit la même dans les vases intérieur et extérieur, les niveaux les mêmes et la composition des liquides uniforme. »

Or, ce sont des phénomènes très différents que nous observons dans nos expériences. A part une seule exception (encéphale 4), le maximum ne se maintient pas « *quelque temps* » comme dans les phénomènes osmotiques vrais, mais la descente commence immédiatement après que le maximum a été atteint ; et *fait essentiel*, cette descente, au lieu de se faire avec l'*extrême lenteur* dont parle le professeur Dastre, se fait ici avec une vitesse qui dépasse (au moins dans les deux premières heures de la descente), la vitesse avec laquelle s'effectuait la phase ascendante.

Mais si la phase descendante notée dans nos expériences ne paraît pas répondre à celle d'un phénomène osmotique, la phase ascendante elle-même nous paraît s'en écarter sensiblement.

En effet, nous relevons dans le travail du professeur Dastre (2) l'expérience suivante faite par Dutrochet. Cet auteur chercha, comme on sait, à fixer le pouvoir osmotique d'un certain nombre de solutions. Après avoir constaté que ce pouvoir osmotique était indépendant de la densité, il se proposa d'étudier sur des mélanges d'eau et de sucre à différentes concentrations les lois qui régissent les *vitesse d'endosmose* de ces diverses solutions. Parmi ces expériences, il en est une qui présente, suivant nous, un intérêt particulier parce qu'elle paraît pouvoir être comparée, dans une certaine mesure, avec l'imbibition de nos encéphales dans l'eau distillée.

Il prépare une solution composée de :
une partie de sucre
et quatre parties d'eau.

Ce mélange a une densité = à 1,083. On place cette solution

(1) Dastre. Osmose, tonométrie, cryoscopie, page 474.

(2) Dastre, loco citato, p. 475.

dans le vase osmométrique et on note qu'après 1 heure et demie, la densité du mélange sucré est descendue à 1,078.

Demandons-nous quelle a été la quantité d'eau qui a pénétré dans l'osmomètre pour abaisser la densité de son contenu de 1.083 à 1.078.

Supposons que le volume initial du mélange sucré ait été de 1 litre (1.000 centimètres cubes) pesant, par conséquent, 1.083 grammes et supposons que la quantité d'eau qui a pénétré dans l'osmomètre, soit égale à 7 : 100 du poids initial du mélange (1.083 gr.) ; nous aurons, par conséquent, après une

heure et demie, $\frac{1.083 \times 7}{100} = 75$ gr. 81 d'eau qui se sont ajoutés au poids initial de 1.083 grammes (1). D'autre part, les 75 gr. 81 d'eau mesurent un volume de 75 centimètres cubes (environ), nous aurons ainsi, finalement, un volume de 1.075 centimètres cubes de solution sucrée pesant $1.083 + 75,81 = 1.158,8$ gr. 81, ce qui donne pour densité :

$$\frac{1158,8 \times 1000}{1075} = 1078.$$

Par conséquent, si nous ne tenons pas compte du sucre sorti par exosmose, l'abaissement de la densité du mélange de 1.083 à 1.078, suppose qu'après une heure et demie d'immersion, le contenu de l'osmomètre a « absorbé » en eau 7 : 100 de son poids initial ; mais comme il y a eu du sucre sorti par exosmose, la quantité d'eau nécessaire à abaisser la densité du mélange à l'intérieur de l'osmomètre, a été inférieure à 7 : 100.

En résumé, un mélange formé de quatre parties d'eau et d'une partie d'une substance organique (sucre de canne), ce mélange contenu dans un osmomètre, a attiré moins de 7 pour 100 d'eau en une heure et demie. Maintenant, essayons d'assimiler nos encéphales à un système osmotique.

On peut dire que les encéphales sont composés à peu près de $\frac{4}{5}$ d'eau pour $\frac{1}{5}$ de matières solides. Par conséquent, en assimilant un encéphale à une solution sucrée composée de 4 parties d'eau et d'une partie de sucre, nous le dotons d'un pouvoir osmotique à peu près égal à celui de la solution de Dutrochet.

(1) Nous ne tenons pas compte du sucre sorti par exosmose.

Or, notre expérience nous enseigne qu'après une heure et demie, notre pseudo-système osmotique a absorbé, en eau, à peu près 38 : 100 de son poids initial, c'est-à-dire *plus de cinq fois* ce qu'absorbait un système osmotique véritable, composé d'une même proportion d'eau et d'une même proportion de matière organique. N'apparaît-il pas que les phénomènes observés sur nos encéphales, ressemblent bien plus à une sorte d'*imbibition en masse*, suivie d'une deshydratation également massive, plutôt qu'à un phénomène osmotique ? Peut-être nos expériences ultérieures nous éclaireront-elles sur ce point.

§ II. — Imbibition du tissu nerveux dans des solutions d'un même sel à des concentrations différentes

Du point de vue des variations de poids qu'elles impriment aux encéphales de passereaux, les solutions d'un même sel à concentrations différentes, peuvent se diviser en trois groupes.

Celles du *premier groupe* produisent toujours une augmentation de poids dès le début.

Celles du *troisième groupe* produisent toujours *au début* une diminution de poids.

Entre ces deux groupes se placent un petit nombre de solutions, dont les concentrations oscillent autour et très près de 1,2N (70 : 1.000 pour une solution de NaCl). Ces solutions laissent, au début, le poids initial inchangé ou presque inchangé. C'est parce qu'elles semblent établir une limite de séparation entre les solutions du 1^{er} et du 3^e groupe, que nous les avons appelées solutions-limite. Comme, d'autre part, nous avons classé nos solutions d'après leurs concentrations et que ces solutions-limite viennent, à ce point de vue, après celles du premier groupe, nous les appellerons indifféremment, solutions-limite ou *solutions du 2^e groupe*.

Solution du 1^{er} groupe. — Elles produisent, nous l'avons dit, une augmentation de poids dès le début de l'immersion.

Les solutions salines employées étaient des solutions de NaCl ; leurs concentrations progressivement croissantes étaient égales à : 5, 7, 8, 10, 12, 14, 15, 25, 29, 58 pour mille.

Voici les résultats observés :

EXPÉRIENCE 9

Immersion d'encéphales dans NaCl à 5 : 1.000, température ambiante, 13°.

Encéphales		5	6	7
Poids initial		82,2	80	74
en centigrammes				
Variat. de poids après	1 heure	+ 12	+ 11,5	+ 12 p. 100
	2 »	+ 15,3	+ 14	+ 16
	3 »	+ 19,5	+ 16	+ 20
	4 »	+ 24	+ 21	+ 24
	5 »	+ 28	+ 25	+ 28
	6 »	+ 31	+ 27,5	+ 30
	7 »	+ 34	+ 30,5	+ 35
	8 »	+ 34	+ 33	+ 36
	12 »	+ 42	+ 40	+ 46
	15 »	+ 48,7	+ 46	+ 53
	17 »	+ 50	+ 51	+ 58
	21 »	+ 52,4	+ 53	+ 61
	23 »	+ 53	+ 54	+ 62
	27 »	+ 53,6	+ 57	+ 58
	29 »	+ 53	+ 57	+ 58
	31 »	+ 50	+ 55	+ 58
	41 »	+ 57,3	+ 65	
	42 »	+ 60	+ 62,5	
	44 »	+ 45	+ 36,5	
	45 »	+ 41	+ 36,8	

a) Remarquons ici, comme dans l'expérience précédente (eau distillée), la régularité des résultats.

Au bout de la première heure d'immersion, l'augmentation de poids est la même pour les 3 encéphales. Cette concordance est surtout remarquable pour les encéphales 5 et 6 ; et bien que l'encéphale 7 s'éloigne un peu des deux premiers, ses variations de poids sont cependant encore très près de celles des encéphales 5 et 6. Exemple : après 5 heures d'immersion, nous trouvons une augmentation de poids de 28, 25, 27 0/0 ; après 17 heures, cette augmentation est respectivement de 50, 51, 58 0/0.

b) Si nous comparons l'action de la solution de NaCl à 5 0/00 à celle de l'eau distillée, nous notons que :

1° L'augmentation de poids qui commence dans les deux cas dès le début de l'expérience, est moins considérable dans NaCl que dans H²O.

2° Le maximum, inférieur à celui observé dans H²O, est atteint beaucoup plus lentement. Il se produit vers la 40^e heure (encéphales 5 et 6), tandis qu'il avait lieu à la fin de la 5^e heure dans H²O.

Dans son ensemble, l'action du NaCl sur l'imbibition du tissu nerveux est donc une action restrictive.

3° Dans NaCl comme dans H²O, le maximum est suivi d'une diminution de poids, mais cette dernière est infiniment plus lente et beaucoup moins marquée dans NaCl que dans H²O.

c) Enfin notons que pour les deux encéphales qui se sont conservés assez longtemps pour que nous puissions les suivre jusqu'à la 45^e heure, la chute *définitive*, qui commence à la 40^e ou à la 42^e heure, a été précédée d'une première chute à la 27^e heure (encéphale 5 et 6) et à la 23^e heure (encéphale 7), suivie d'une réimbibition qui aboutit entre la 40^e et la 42^e heure, à la chute définitive.

EXPÉRIENCE 10

Immersion d'encéphales dans NaCl à 7 0/00, température ambiante, 13°.

Encéphales		8	9	10			
Poids initial		80	68,5	68,5			
en centigr.							
Var. de poids après	1 heure	+	8	+	7,5	+	7,5 %
	2		13		11		11
	3		16		14		15
	4		19		16		17
	5		23		19		21
	6		27		22		24
	7		31		26		27
	8		32		27		28
	12		43		36		37
	15		49		41		43
	17		53		44		47
	21		62		51		53
	22		65		53		56
	23		65		53		56
	24		65		53		56
	26		67,5		53		56,5
	27		68		46		57
	29		67,5		44		57
	31		65		36		57
	32		63		31		57
	35		63		30		57

a) D'après ces chiffres, on peut diviser l'imbibition des encéphales, dans NaCl à 7 0/00, en deux périodes : l'une allant du début de l'expérience au maximum atteint vers la 26^e ou 27^e heure, et caractérisée par la similitude des résultats observés sur les 3 encéphales ; l'autre période répond aux phénomènes observés après que les encéphales ont atteint leur maximum de poids. Dans la première période, nous notons, comme dans l'expérience précédente (immersion dans NaCl à 5 0/00), que la vitesse d'augmentation de poids est d'autant plus grande que l'on se rapproche du début de l'immersion. Ainsi que l'indiquent les courbes tracées sur la planche II, l'augmentation de poids dans NaCl à 7 0/00 est légèrement inférieure à celle observée dans NaCl à 5 0/00. Il faut cependant remarquer que l'encéphale 8 atteint à la 27^e heure une augmentation de 68 0/0 qui n'avait été atteinte par aucun des encéphales immergés dans NaCl à 5 0/00. Mais nous ne croyons pas que ce résultat infirme, le fait que, *dans l'ensemble*, les encéphales s'imbibent *moins* dans NaCl à 7 0/00 que dans NaCl à 5 0/00 ; et cette augmentation de poids de 68 0/00 sur un seul encéphale, ne nous paraît pas suffisante pour accepter sans réserve (*en ce qui concerne les encéphales de passereaux*), l'observation suivante que nous relevons dans le mémoire de Mayer et Schaeffer : « entre 0 à 5 0/00, certains tissus présentent une diminution considérable de l'imbibition ; puis entre 5 et 8 ou 9 0/00, un relèvement... » Nous verrons plus loin que sur nos encéphales de passereaux, l'action comparative de NaCl et KCl, n'est pas du tout la même que celle observée par Hooker et Fischer sur les encéphales de lapins (1) ; il se peut donc que les cerveaux de rats sur lesquels opérèrent Mayer et Schaeffer, présentent des phénomènes différents de ceux qui se manifestent sur les encéphales d'oiseaux. Notons encore que Mayer et Schaeffer ont remarqué que dans NaCl à 5 0/00, l'augmentation de poids des cerveaux de rats était sensiblement égale à *la moitié* de ce qu'elle était dans l'eau pure, alors que si nous comparons nos maxima observés dans H²O et dans NaCl à 5 et à 7 0/00, nous voyons que ces maxima sont assez voisins les

(1) Voir notre historique, chap. V, page 276. On verra également que Hooker et Fischer notèrent qu'un cerveau de lapin s'imbibe de 75 % à la 29^e heure dans NaCl à 7 ‰ ce qui diffère sensiblement des chiffres observés par nous.

uns des autres, *si on ne tient pas compte DES TEMPS auxquels on les observe.*

Voici un tableau qui permettra d'en juger rapidement :

	Maximas			
Immersion dans H ² O	67	64	60	57 %
NaCl 5 ‰	65	62	59,7	
NaCl 7 ‰	68	57	53	

Nous croyons que ces maxima sont assez près les uns des autres pour qu'ils chevauchent même, exceptionnellement, les uns sur les autres. Ainsi un de nos encéphales nous donne une augmentation de 59,7 0/0 dans NaCl à 5 0/00, alors qu'un encéphale ne nous avait donné que 57 0/0 dans H²O, et l'encéphale 8 nous donne 68 0/0 d'augmentation dans 7 0/00, alors que ce chiffre n'avait jamais été atteint ni dans NaCl à 5 0/00, ni dans H²O. Mais il n'en n'est pas moins vrai que les deux faits suivants demeurent :

1° Dans l'ensemble, les maxima sont moindres dans NaCl à 5 0/00 que dans H²O et dans NaCl à 7 0/00 que dans NaCl à 5 0/00, et

2° Tous les encéphales immergés dans H²O atteignent, avec une remarquable constance leur maximum à la fin de la 5^e heure, alors, qu'avec une constance non moins remarquable, les encéphales imbibés dans NaCl à 5 et à 7 0/00, atteignent leur maximum à partir de la 23^e heure. L'examen de nos tableaux montre que la vitesse d'accroissement est beaucoup moindre dans les solutions salines que dans l'eau pure, et d'autant moindre que la concentration est élevée.

Enfin, la comparaison des résultats différents obtenus par Hooker et Fischer, par Mayer et Schaeffer et par nous, prouvent que les lois qui régissent l'imbibition des tissus ne varient pas seulement d'un tissu à l'autre, mais qu'elles varient pour un même tissu, d'un animal à l'autre, ce qui confirme d'ailleurs les idées de Mayer et Schaeffer, sur lesquelles nous reviendrons longuement un peu plus tard.

b) Si nous considérons maintenant les variations de poids subies par nos encéphales dans la seconde période de leur imbibition, c'est-à-dire celle qui suit leur maximum, nous

verrons que les résultats sont beaucoup plus discordants. Ainsi de la 27^e à la 35^e heure, le cerveau 9 subit une diminution de poids considérable (de 53 à 30 0/0) ; le cerveau 10 reste stationnaire (57 0/0) ; enfin, entre les deux se place l'encéphale 8 qui ne diminue dans le même temps que de 5 0/0.

Nous observons les mêmes écarts dans les variations de poids qui suivaient les maxima atteints dans NaCl à 5 0/00. Nous avons l'impression qu'après que les encéphales ont subi leur maximum d'imbibition, une partie des cellules ont été tuées ou notablement modifiées, par suite de la violence des phénomènes physico-chimiques, dont elles ont été le siège ; et nous croyons que les phénomènes observés à ce moment-là ne sont plus des phénomènes physiologiques proprement dits, mais bien des phénomènes complexes dus, *en partie*, à la mort d'un certain nombre de cellules ; c'est pourquoi, dans la planche II, nous n'avons inscrit que la partie de nos courbes qui s'étend du début de l'immersion au maximum de poids. Les phénomènes observés pendant cette période sont remarquablement concordants et doivent seuls, selon nous, être pris en considération dans l'étude de l'imbibition du tissu nerveux, dans les solutions du 1^{er} groupe.

c) Comparaison des phénomènes d'imbibition présentés par des encéphales, avec ceux présentés par des gastrocnémiens immergés les uns et les autres dans une solution de NaCl à 7 0/00.

Outre la régularité des premiers, qui contraste avec la discordance des résultats obtenus avec des muscles de grenouille, l'examen des faits nous suggère encore les remarques suivantes :

Pendant les premières heures, le tissu musculaire s'imbibe souvent plus rapidement que le tissu nerveux. Ainsi, il n'est pas rare de trouver une augmentation de poids de 20 ou 21 0/0 au bout de la 2^e heure, sur des muscles immergés dans NaCl à 7 0/00, alors qu'immergés dans la même solution, un encéphale n'atteint jamais une telle augmentation de poids.

Mais en revanche (à l'exception d'un seul cas, muscle *a*) (1), les muscles atteignent leur maximum entre la 4^e et la 6^e heure,

(1) Voyez planche I.

et jamais ce maximum n'atteint les chiffres atteints par le tissu nerveux. Enfin, une fois parvenus à leur maximum, les muscles s'y maintiennent sans changement pendant 20 ou 24 heures, tandis que les encéphales augmentent d'une façon ininterrompue jusqu'à la 26^e heure (environ), puis subissent 2 fois sur 3 une diminution de poids. En résumé, l'imbibition des tissus nerveux et musculaire dans NaCl à 7 0/00, se différencie par les trois caractères suivants :

1° *Par la vitesse d'accroissement de poids* : elle est plus grande pour le muscle que pour l'encéphale.

2° *Par le maximum d'augmentation de poids* : il est moins élevé pour le muscle que pour l'encéphale, ce qui implique que ce maximum est atteint beaucoup plus tôt pour le muscle que pour l'encéphale, puisque ce dernier s'imbibe moins vite que le premier.

3° *Par le comportement post-maximal des 2 tissus* : le tissu musculaire se maintient longtemps à son maximum, tandis que le tissu nerveux diminue très peu de temps après avoir atteint son maximum. N'est-il pas évident que les phénomènes d'imbibition subis par le tissu musculaire sont conditionnés par d'autres facteurs que ceux subis par le tissu nerveux.

d) Enfin, avant d'étudier l'action des solutions plus concentrées, nous nous permettons de rappeler ce que nous écrivions en 1913, touchant l'imbibition du tissu nerveux (1) : « ...les solutions à 7 0/00 et celles de concentrations voisines (10 et 12 0/00), produisent une augmentation de poids considérable. Bien plus, cette imbibition des tissus s'observe encore dans des solutions à 14, 29 et 58 0/00 ! Il doit donc y avoir dans l'organisme vivant, un mécanisme particulier qui empêche le sérum sanguin, comparable, au point de vue minéral, à une solution de NaCl de concentration voisine de 7 0/00, d'agir comme les solutions salines. » Nous nous expliquerons plus tard sur ce mécanisme (2) quand nous analyserons le mémoire de Mayer et Schaeffer.

Etudions maintenant les phénomènes d'imbibition qui se

(1) Extrait des comptes rendus des séances de la Société de Biologie. Séance du 28 juin 1913, T. 74, p. 1398.

(2) Voir nos « Conclusions ».

manifestent dans des solutions de NaCl de plus en plus concentrées.

EXPÉRIENCES 11 A 16

Immersion d'encéphales dans des solutions de NaCl à 8, 10, 12, 14, 29, 58,5 0/00.

EXPÉRIENCE 11

Immersion d'encéphales dans NaCl à 8 0/00, température ambiante 13°.

	Encéphale	11	12
Poids initial en centigr.		79	79
Variations de poids après	1 heure	+ 5	+ 6 %
	2	7	+ 9
	3	11	14
	4	12	14
	5	14	15
	6	16	17
	7	18	20
	8	20	22
	12	30	31
	16	31	36
	18	24	37
	19	24	40
	21	24	39
	23	25	39
	24	22	39
	28	22	44
	38	31	51
	43	30	51
	46	30	49
	48	24	45
	52	24	44
	61	24	

Remarquons que dans NaCl à 8 0/00 comme à 5 0/00, il se produit une première diminution de poids [à la 16^e heure (encéphale 11) et à la 19^e heure (encéphale 12)], suivie elle-même d'une augmentation de poids qui aboutit au maximum définitif à la 38^e heure; la chute définitive qui suit ce second maximum a lieu de la 46^e à la 48^e heure.

Mais ce qui paraît particulièrement intéressant dans cette expérience, c'est que les maxima observés sont de 51 et 31 0/0. Or, nous avons vu que les maxima dans NaCl à 7 0/00 étaient de 53, 56 et 58 0/0, et nous allons voir que dans NaCl à 10 0/00

et à 11 0/00, les *maxima* sont supérieurs à ceux obtenus dans NaCl à 8 0/00. Il se peut donc que la concentration de 8 0/00 soit, pour les encéphales d'oiseaux, ce qu'étaient, pour certains tissus, les concentrations comprises entre 0 et 5 0/00, concentrations qui, d'après Mayer et Schaeffer, amenaient « une diminution considérable de l'imbibition », alors que ces auteurs ont vu le maximum d'imbibition se relever dans des solutions de concentrations supérieures (1). Il faut cependant noter que si les *maxima* observés dans NaCl à 8 0/00 sont inférieurs à ceux observés dans NaCl à 10, 12 et 11 0/00, la courbe d'imbibition, pendant les 16 premières heures, occupe sa place normale, c'est-à-dire que l'imbibition est moindre que dans 7 0/00 et plus considérable que dans 10, 12 et 14 0/00 et au delà.

EXPÉRIENCE 12

Imbibition d'encéphales dans NaCl à 10 0/00, température ambiante 13°.

Encéphales	13	14	15
Poids initial en centigr.	78	77	69
Variat. de poids après 12 heures	+ 27	+ 29	+ 30 %
14	27,5	30	30,5
15	27,5	30	30,5
18	29	35	34
20	30	37	35
22	32	38	37
24	34	38,5	37,5
25	36	44	38
27	35	42	37
36	43	50	46
40	44	51	47
42	44	53	45
45	44	56	45
48	42	54	44
50	42	49,5	38,5
51	38	47	34,5
60	38	47	34
64	29	38,5	

Ici comme dans NaCl à 5 et à 8 0/00, nous notons un premier maximum (à la 25^e heure), suivi d'une chute puis d'un

(1) Mayer et Schaeffer, loc. cit.

relèvement qui aboutit à un maximum définitif entre la 40^e et la 45^e heure. On voit que *ce maximum dépasse celui obtenu dans NaCl à 8 0/00.*

EXPÉRIENCE 13

Imbibition d'encéphales dans NaCl à 12 0/00.

Encéphales	16	17	18
Poids initial en centigr.	81	73	77
Variat. de poids après 12 heures	+ 26	+ 25	+ 22 %
15	26	28	24,5
16	26	28	26
19	29	32	30
22	31	35,5	34
24	32	37	35
29	34	41,5	36
37	40	48,5	44
40	44	52	45
42	37	50	45
44	34,5	46,5	41
48	30,4	46,5	36

On voit qu'à la 12^e heure, l'imbibition est moins marquée que dans 10 0/00 au même temps ; les chiffres représentant les maxima sont très voisins de ceux observés dans NaCl à 10 0/00, et en moyenne *ils sont plus élevés* que dans NaCl à 8 0/00.

EXPÉRIENCE 14

Imbibition d'encéphales dans NaCl à 14 0/00.

Encéphales	19	20	21
Poids initial en centigr.	34	84	69
Variat. de poids après 12 heures	19	17	22
22	27	34	37
26	33	37	37
29	34	37	39
33	35,7	40,4	39
45	43	52	48
48	43	50	
56	43	50	

On voit qu'à la 12^e heure, l'imbibition est moindre que dans NaCl à 12 0/00.

Si nous examinons les maxima, nous constatons que les chiffres qui les expriment sont très voisins de ceux observés dans NaCl à 12 0/00 ; mais ce qui prouve que, *dans l'ensemble*, l'imbibition est d'autant moindre que la concentration est forte, c'est que si on compare les maxima observés dans NaCl à 11 0/00, non plus à ceux notés dans NaCl à 12 0/00, mais à ceux de NaCl à 10 0/00, on voit que par rapport à ces derniers, les maxima dans NaCl à 11 0/00, sont nettement inférieurs et, *fait essentiel*, ils sont atteints plus tard (45^e heure) (1).

EXPÉRIENCE 15

Immersion d'encéphales dans NaCl à 29 0/00, température ambiante, 20°.

Encéphales	22	23	24
Poids initial en centigr.	73	75	76
Variat. de poids après 12 heures	+ 16	+ 20	+ 18
22	30	30	31
26	33	30	29
34	42	34	33
47	48	42	39
51	48	45	33
57	45	44	30

a) L'augmentation de poids continue à décroître à mesure que la concentration augmente.

Les maxima sont atteints de plus en plus tard.

EXPÉRIENCE 16

Immersion d'encéphales dans NaCl à 58,5 0/00.

Encéphales	25	26	27
Poids initial en centigr.	80	78	75 %
Variat. de poids après 12 heures	+ 16	+ 10	+ 13
22	25	21	22
26	28	22	21
34	37	29	29
47	41	36	34
51	45	30	29
56	43,7	24	25

(1) Voyez la planche II.

a) Même observation qu'au sujet de l'expérience 15. L'augmentation de poids continue à décroître. Les maxima, nettement inférieurs à ceux de l'expérience 15, ne sont atteints qu'entre la 47^e et la 51^e heure.

Avec la dernière solution employée (NaCl à 58 0/00), nous nous rapprochons de la concentration des solutions du second groupe, c'est-à-dire des solutions-limite ; mais avant d'aborder l'étude de ces dernières, nous voudrions mettre sous les yeux du lecteur un tableau d'ensemble comportant, pour les différentes concentrations étudiées,

- 1° les augmentations de poids observées à la 12^e heure,
- et 2° les maxima (1) d'imbibition,
- 3° les temps auxquels ces maxima sont atteints.

Concentra- tions	Augmentation de poids en % à la 12 ^e heure				Maxima			Temps auxquels sont atteints ces maxima
0 ‰ (H ² O)				57	60	64	67	5 heures
5	40	42	46		59	64	65	42 h.
7	36	37	43		53	56	68	29 h.
8	30	31				31	51	38 h.
10	27	29	30		44	47	55	40 h.
12	22	25	26		44	45	52	40 h.
14	17	19	22		42	47	52	45 h.
29	16	18	20		39	45	47	47 h.
58,5	10	13	16		34	36	45	47-51 h.

Ce tableau montre :

1° Qu'à la 12^e heure, les augmentations décroissent à mesure que la concentration augmente.

2° Qu'à l'exception des maxima observés dans NaCl à 8 0/00, les maxima suivent la même loi.

3° Enfin, qu'à l'exception de ce qui s'est passé dans NaCl à 5 0/00, où les maxima n'ont été atteints qu'à la 42^e heure, le temps auquel les encéphales atteignent leur maximum, est d'autant plus éloigné du début de l'immersion que la concentration est élevée.

(1) Pour les solutions qui ont donné 2 maxima, c'est le second maximum, le maximum définitif, que nous inscrirons ici.

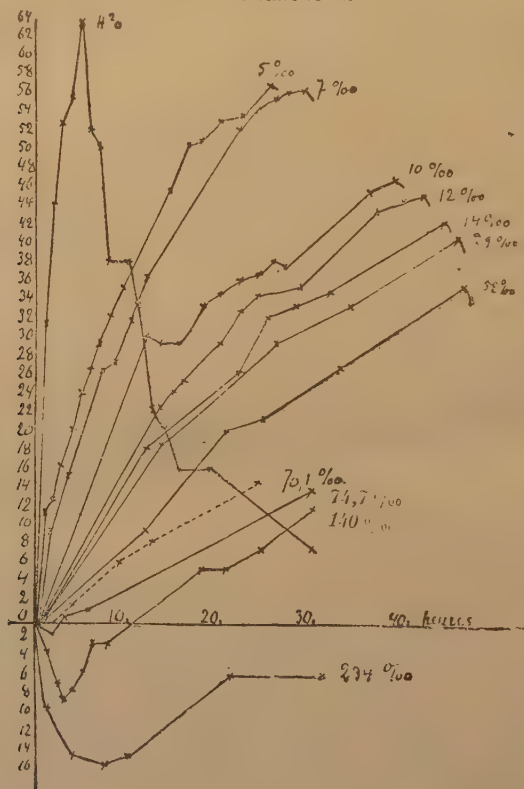
C'est ce que nous exprimions de la façon suivante dans notre note à la Société de biologie (1) :

« Les courbes se différencient les unes des autres par la variation de deux facteurs principaux :

« a) *Par la vitesse d'accroissement* : plus la solution est concentrée, moins la vitesse d'accroissement est grande.

« b) *Par la valeur de l'augmentation de poids* : plus la concentration est forte, moins le maximum est élevé. »

Planche 2.



Influence des réactions post mortem sur l'imbibition des encéphales. — Il importe de faire observer que les courbes qui viennent d'être établies ne sont vraies que si les encé-

(1) Loco citato,

phales ont été immergés immédiatement après la mort de l'animal. Si l'immersion n'a eu lieu que quelque temps après, les variations de poids suivent des courbes un peu différentes.

Nous avons observé les augmentations de poids subies par 6 encéphales dont 3 avaient été immergés immédiatement après la mort et dont les 3 autres ne l'avaient été que cinq heures après la mort. La solution employée était une solution de NaCl à 7 0/00.

EXPÉRIENCE 17

Voici les résultats de l'expérience :

Jusqu'à la 12^e heure d'immersion, les variations de poids ne sont pas très différentes les unes des autres. Les encéphales immergés immédiatement après la mort, accusent une augmentation de 36, 37, 43 0/0 ; ceux immergés 5 h. après leur mort, avaient augmenté de 37, 43, 47 0/0. Mais de la 12^e à la 22^e heure, les variations de poids suivent des courbes très différentes : les encéphales immergés immédiatement après leur mort continuent leur imbibition pour atteindre presque leur maximum vers la 22^e heure (53, 56, 65 0/0), tandis que pendant cette même période, les encéphales immergés 5 heures après leur mort augmentent beaucoup moins de poids (42, 46, 51 0/0) ; mais de la 22^e à la 36^e heure, ces derniers accélèrent leur imbibition pour atteindre, à la 36^e heure à peu près le même poids (53, 54, 64 0/0), que les premiers à la 22^e heure.

En somme, que les encéphales soient immergés tout de suite après la mort de l'animal, ou plusieurs heures après ils subissent à peu près les mêmes variations de poids pendant les 12 premières heures d'immersion, et atteignent les uns et les autres le même maximum. Mais ce maximum est atteint *beaucoup plus tôt* par les encéphales immergés immédiatement après la mort, que par ceux que l'on a immergés que 5 heures après la mort.

Nous avons terminé maintenant notre étude sur les solutions du premier groupe et allons aborder celle des solutions du second groupe (solutions-limite).

Solution du deuxième groupe : Solutions-limite. — Nous avons vu (page 318), que leur concentration oscillait autour

de 70 0/00, pour les solutions de NaCl . Voici quelques expériences qui vont nous permettre d'étudier les solutions-limite.

EXPÉRIENCE 18

Immersion d'un encéphale dans NaCl à 70 0/00.

Encéphale 28

	poids initial	84 centigr.
Après 1 heure		Poids initial
2 »		»
4 »		+ 2,3 ‰
9 »		+ 7 ‰
13 »		+ 8,3 ‰
24 »		+ 14 ‰

EXPÉRIENCE 19

Immersion d'un encéphale dans NaCl à 74 0/00.

Encéphale 29

	Poids initial	77,5 centigr.
Après 1 heure		— 1 ‰
2 »		— 1,2 ‰
3 »		+ 1,2 ‰
9 »		+ 6,5 ‰
13 »		+ 8 ‰
18 »		+ 11 ‰
23 »		+ 13 ‰

EXPÉRIENCE 20

Comparaison entre les variations de poids subies par un encéphale de passereau et les gastrocnémiens d'une même grenouille, immergés dans *une même solution* de NaCl à 70 0/00.

	Encéphale 30	Muscle p	Muscle p'
Poids initial en centigrammes	77	67,5	66
Après 1 heure	poids init.	— 1,4 ‰	— 4,5 ‰
2 »	poids init.	— 2,8	— 4,6
3 »	+ 0,7 ‰	poids init.	— 0,7
8 »	+ 6,4	+ 11	+ 12
16 »	+ 14	+ 28	+ 30
21 »	+ 18	+ 35	+ 28

Cette expérience termine celles que nous avons faites sur les solutions-limite.

Les expériences 18 et 20 nous montrent que dans NaCl à 70 0/00, les encéphales ne changent pas de poids pendant les deux premières heures ; leur imbibition ne commence que dans le cours de la troisième heure. L'expérience 19 nous montre que dès que l'on dépasse la concentration de 70 0/00, l'encéphale diminue de poids au début ; c'est ce qui justifie, croyons-nous, le nom de concentrations-limite ou de solutions-limite que nous avons donné aux solutions de ce deuxième groupe.

Enfin, la dernière expérience (20) nous révèle quelques faits intéressants sur le comportement des tissus nerveux et musculaire dans une même solution de NaCl à 70 0/00.

1° Nous voyons qu'une solution à 70 0/00 qui est une solution-limite pour le tissu nerveux, ne l'est pas pour le tissu musculaire. Elle laisse au premier son poids initial pendant les 2 premières heures, alors que sur le tissu musculaire elle agit comme une solution du 3^e groupe, c'est-à-dire en produisant, dès le début, une diminution de poids.

2° Nous avons déjà attiré l'attention (page 305), sur ce fait paradoxal : c'est qu'une solution de CaCl^2 de concentration $\equiv$ à N, produisait une diminution de poids *moins considérable* qu'une solution du même sel à $\frac{\text{N}}{8}$. Nous rencontrons ici, pour le NaCl , un fait analogue. Nous avons vu, en effet (page 305 et suivantes), que tous les muscles immergés dans NaCl à N (58,5), subissaient, dès la première heure, une diminution de poids allant de — 10 à — 15 0/0. Or, dans notre dernière expérience, nous voyons qu'une solution de NaCl affectée d'une concentration très supérieure (70 0/00 au lieu de 58,5 0/00), ne produit qu'une diminution de poids d'environ — 3 à — 4 0/0. Il semble donc (contrairement à ce que nous avons observé sur le tissu nerveux), que dans les solutions qui jouent pour le tissu musculaire le rôle de solutions du 3^e groupe, la diminution de poids subie par le muscle soit d'autant moindre que la concentration est élevée. Voilà, n'est-il pas vrai, encore un fait qui prouve à la fois que les différents tissus ne s'imbibent pas suivant les mêmes lois, et que

leur imbibition ne saurait être expliquée par les lois de l'osmose. Etudions maintenant les solutions du troisième groupe.

Solutions du troisième groupe produisant une diminution de poids dès le début de l'immersion.

EXPÉRIENCE 21

Immersion d'encéphales dans des solutions de NaCl à 74, 140 et 234 0/00.

	Encéphales	31	32	33
	NaCl	à 74 ‰	140 ‰	234 ‰
Après immersion d'	1 heure	— 1 ‰	— 3,4 ‰	— 10 ‰
	2 »	— 1,2	— 7,4	—
	3 »	+ 1,2	— 8	— 13
	8 »			— 15
	18 »	+ 11	+ 6	— 5
	23 »	+ 13	+ 7	— 5
	31 »			— 5,7

On voit que ce qui caractérise l'action de ces trois solutions, c'est que les encéphales qui y sont immergés subissent tous une diminution de poids au début, suivie d'une réimbibition de leurs tissus.

Nous nous trouvons en présence d'un phénomène déjà observé sur le muscle, soit avec une solution de CaCl_2 à $\frac{\text{N}}{8}$, soit avec des solutions de NaCl , KCl et CaCl_2 à N.

Mais il existe entre les courbes fournies par les gastrocnémiens de grenouille et celles fournies par les encéphales, certaines différences qu'il importe de mettre en relief.

Nous avons déjà noté qu'une solution de NaCl de concentration = à N (58,5 0/00), agissait sur le muscle comme une solution du troisième groupe, c'est-à-dire en lui faisant subir une diminution de poids au début de l'immersion ; or, vis-à-vis du tissu encéphalique, une telle solution se classe parmi celles du premier groupe, c'est-à-dire dans celles qui produisent, dès le début, une augmentation de poids qui s'accroît progressivement jusqu'à un certain maximum.

Une autre remarque qui nous paraît intéressante est celle-ci :

Autant *l'imbibition du muscle* nous paraissait irrégulière dans sa marche quand nous opérions sur des solutions des trois sels (NaCl , KCl , CaCl_2), équimoléculaires à NaCl à 7 0/00, autant les phénomènes d'imbibition nous paraissaient *réguliers* lorsque nous opérions avec des solutions de concentration = à N, c'est-à-dire avec des solutions qui appartiennent, *pour le muscle*, à celles du troisième groupe. Or, c'est tout le contraire qui se produit pour le tissu nerveux. Tandis que les solutions du premier groupe imprimaient sur les encéphales des variations de poids assez régulières pour qu'elles donnent l'impression d'obéir à une loi mathématique, les solutions du troisième groupe produisent sur l'encéphale des variations de poids moins régulières.

Ainsi l'expérience 21 nous montre que d'une *façon générale*, la diminution de poids est d'autant plus grande et le maximum de réimbibition d'autant moins élevé, que la concentration est forte ; mais des expériences faites avec des solutions intermédiaires à celles indiquées dans l'expérience 21, nous ont fourni des chiffres parfois paradoxaux. Par exemple, un encéphale imbibé dans NaCl à 78 0/00, n'a diminué que de — 0,25 0/0, alors que l'encéphale 31 (Expérience 21), imbibé dans NaCl à 71 0/00, a diminué de — 1 0/0 ; l'encéphale 32 descend dans 140 0/00 à — 8 0/0, alors que dans des solutions de NaCl à 146 et 152 0/00, la diminution de poids s'arrêtait à — 5 0/0 environ.

D'autre part, on voit que dans NaCl à 234 0/00, le cerveau ne parvient pas à récupérer son poids initial. Nous ne croyons pas possible d'établir une formule qui puisse faire prévoir ni la diminution de poids du début, ni la réimbibition consécutive dans les solutions du troisième groupe.

J. Loeb s'était demandé, au sujet des muscles, si la phase ascendante succédant à la descente initiale n'était pas due à ce que les tissus désorganisés par les solutions salines, de forte concentration, se laissaient simplement imprégner comme une masse de gélatine. Mais l'hypothèse de Loeb ne paraît pas concorder avec les faits, au moins en ce qui concerne l'encéphale de passereau. Voici une expérience qui prouve que la phase ascendante n'est nullement l'indice de la mort des cellules.

EXPÉRIENCE 22

Encéphale 34.

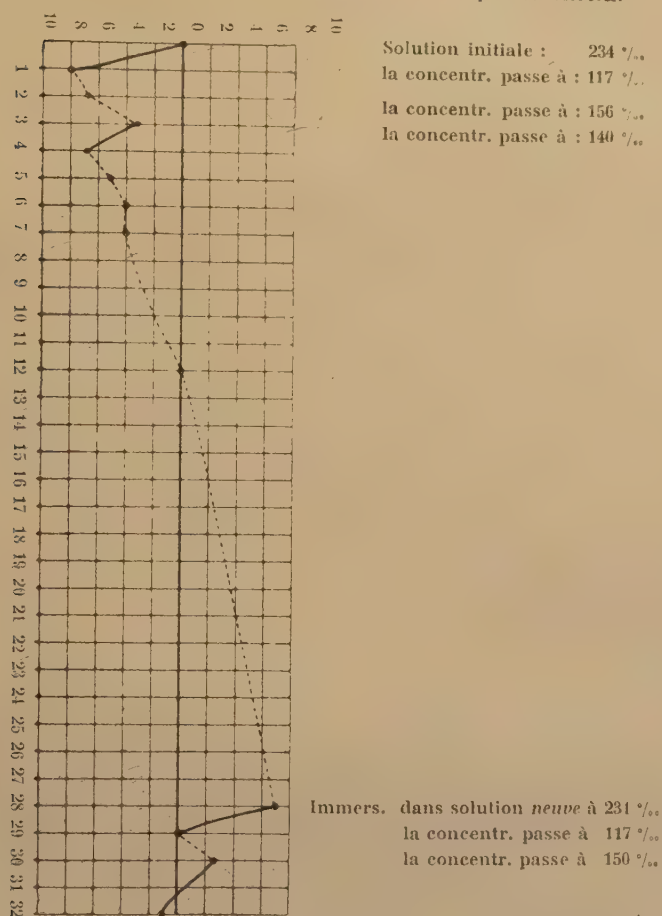
Réaction d'un encéphale immergé dans une solution de NaCl dont la concentration est alternativement diminuée et augmentée. Un encéphale, après avoir été pesé, est immergé dans une solution de NaCl à 234 ‰ ; puis, en ajoutant alternativement une quantité déterminée d'eau distillée ou de NaCl à très haute concentration, on diminue ou on augmente la concentration de cette même solution initiale. Voici les résultats de l'expérience :

Concentration de la solution de NaCl	Poids de l'encéphale	Variations de poids en ‰ du poids initial
Concentration initiale 234 ‰	76 cent.gr.	
Après 1 heure	69,5 »	— 8 ‰
à ce moment on amène la solut. à 117 ‰		
Après 1 heure	70,5 »	— 7
— 2 heures	73,5 »	— 3
à ce moment on amène la solut. à 156 ‰		
Après 1 heure	71 »	— 6,5
à ce moment on amène la solut. à 140 ‰		
Après 1 heure	72 »	— 5
2	73 »	— 4
3	73 »	— 4
8	76 »	± 0
24	81,5 »	+ 7
à ce moment on place l'encéphale dans une solution <i>neuve</i> à 234 ‰ : après 1 h.	76 »	± 0
On amène ensuite cette solution à 117 ‰ » 1 h.	78 »	+ 2,1
» » » 150 ‰ » 2 h.	75 »	— 1,3

Ainsi, de la 30^e à la 32^e heure, le même encéphale immergé constamment dans des solutions à très hautes concentrations, *diminuait* encore de poids dans une solution dont la concentration passait de 117 à 156 ‰. Voici un graphique qui représente les variations de poids que nous venons de consigner :

Planche III

Variations de poids en pour cent du poids initial



Avant de terminer nos observations sur les solutions du troisième groupe, nous voudrions faire observer qu'ici, comme dans les expériences faites sur le tissu musculaire, les variations de poids (diminution suivie tout à coup d'une augmentation de poids), ne semble pas être comparables aux phénomènes d'osmose électrique observés par P. Girard (1) sur les globules rouges.

(1) P. Girard, loc. citato. Voir également chap. 3 de ce mémoire, pages 94 et suiv.

Jetons, en effet, un coup d'œil sur la planche II, et comparons les courbes fournies par les solutions à 74, 140 et 234 0/00. Nous voyons que *plus la concentration est élevée, plus le point de rebroussement* (c'est-à-dire la reversion du sens du courant d'eau) est éloigné du début de l'expérience. Or, s'il s'agissait ici d'une reversion de l'osmose qui dépendit de modifications survenant dans le signe de la charge électrique à la surface cellulaire, ces modifications ne pourraient dépendre que de la grandeur de la concentration. Il s'ensuit que plus une solution serait concentrée et apporterait, par conséquent, de cations capable d'agir sur la charge électrique à la surface cellulaire, plus l'inversion du signe électrique devrait se produire rapidement : c'est le contraire qui se produit ; plus la concentration est élevée, plus, nous le répétons, la prétendue réversion du sens de l'osmose est lente à se produire.

Une autre remarque semble se dégager de la dernière expérience faite sur un encéphale soumis à une solution de NaCl, dont la concentration est alternativement élevée ou diminuée.

Nous nous sommes assurés qu'une solution à 117 0/00 conditionne une diminution de poids qui se continue depuis le début de l'expérience jusqu'à la fin de la 3^e heure. Nous savons également que dans une solution de NaCl à 234 0/00, la diminution de poids se manifeste depuis le début jusqu'à la 8^e heure.

Ceci dit, examinons notre courbe inscrite sur la planche III. Notre encéphale immergé dans NaCl à 234 0/00 diminue de poids suivant la loi habituelle. *Avant qu'il ait terminé sa course descendante*, c'est-à-dire au bout d'une heure, nous amenons la solution de 234 à 117 0/00. Nous voyons qu'immédiatement, il se produit une inversion du sens du phénomène (1) ; or, cette dernière concentration (117 0/00), employée d'emblée, conditionne toujours une variation de poids *dans le même sens* qu'une solution à 234 0/00 et cela pendant 3 heures. Comment expliquer qu'une solution à 117 0/00, qui, par elle-même, conditionne une diminution de poids

(1) Nous nous excusons d'employer des paraphrases si longues et si vagues. On verra plus loin pourquoi nous ne voulons pas employer des termes « d'osmose » et de « membrane ».

pendant 3 heures, produise subitement un rebroussement de la courbe quand on la fait succéder (après une heure d'immersion), à une solution à 234 0/00 qui, par elle-même, produit une variation de poids *dans le même sens* que la solution à 117 0/00 ? Ces faits ne nous paraissent pas assimilables à ceux observés par P. Girard, car on ne comprend pas bien comment l'apport de cations (provenant de la solution à 117 0/00), pourrait inverser le signe électrique à la surface cellulaire, quand ce signe était évidemment déjà conditionné par ces mêmes cations (provenant de la solution à 234 0/00). Le nombre des cations Na^+ en rapport avec la surface cellulaire est différent dans les deux solutions, mais leur signe électrique ne varie pas, et, par conséquent, ne saurait faire varier celui qui affecte la surface cellulaire.

§ III. — Action comparée de solutions isotoniques de NaCl , KCl , CaCl^2 et de saccharose

Préparation des solutions. — Nous avons d'abord préparé des solutions équimoléculaires de NaCl , KCl et CaCl^2 de concentration égale à 2,4 N (solutions du 3^e groupe comparables à une solution de NaCl à 140 : 1.000). Puis on prélevait 50 centimètres cubes sur chaque solution et on les étendait de 50 centimètres cubes d'eau distillée. Nous obtenions ainsi des *solutions-limite* à 1,2 N comparables à une solution de NaCl à 70 : 1.000. Enfin, nous prélevions sur chacune de ces dernières solutions 20 centimètres cubes que nous étendions de 9 fois (180 centimètres cubes), leur volume d'eau distillée ; cela nous donnait des solutions équimoléculaires de concentration égale à 0,12 N ou $\frac{\text{N}}{8}$ (environ). Ces solutions étaient donc comparables à une solution de NaCl à 7 : 1.000. (Solutions du 1^{er} groupe).

C'est de ces dernières solutions que nous établissions le point cryoscopique par la méthode de Raoult. Selon l'écart qui existait entre les points cryoscopiques trouvés et point cryoscopique théorique $\Delta = -0,54$ que nous cherchions, nous augmentions par tâtonnements la dilution ou la concentration des solutions initiales à 2,4 N jusqu'à ce que étendues comme il a été dit, elles nous donnassent des solutions com-

parables à une solution de NaCl à 7 : 1.000 et dont le point cryoscopique fût exactement égal à $-0,54$.

Ce même Δ a été vérifié également par la méthode de Raoult sur la solution de saccharose.

Solutions du premier groupe

EXPÉRIENCE 23

Nos pesées sont portées sur le tableau suivant qui permettra au lecteur de comparer immédiatement les variations de poids imprimées aux encéphales par les différentes solutions. Les chiffres inscrits sur ce tableau sont portés en graphiques sur la planche IV qui y fait suite.

	Kcl				NaCl		CaCl ²		Saccharose		
Encéphales	36.	37.	38.	8.	9.	10	39.	40.	41.	42.	43
Après immers. d' 1 heure +	10	9	10	+8	7	7 +	7	7	10	11	10
2 »	14	15	15	13	»	11	10	10			
3 »	19	19	20	16	14	15					
4 »	23	23	26	19	16	17	16	17	22	23	26
5 »	26	27	31	23	19	21					
6 »	29	30	33	27	29	24	17	18	31	26	27
12 »	39	44	44	43	36	37	19	20	35	32	35
17 »	51	55	61	53	44	47			37	33	37
22 »	56	57	65	65	53	56	25	28	35	36	38
26 »								30	31	34	37
30 »								32			

L'examen de ce tableau nous conduit aux conclusions suivantes :

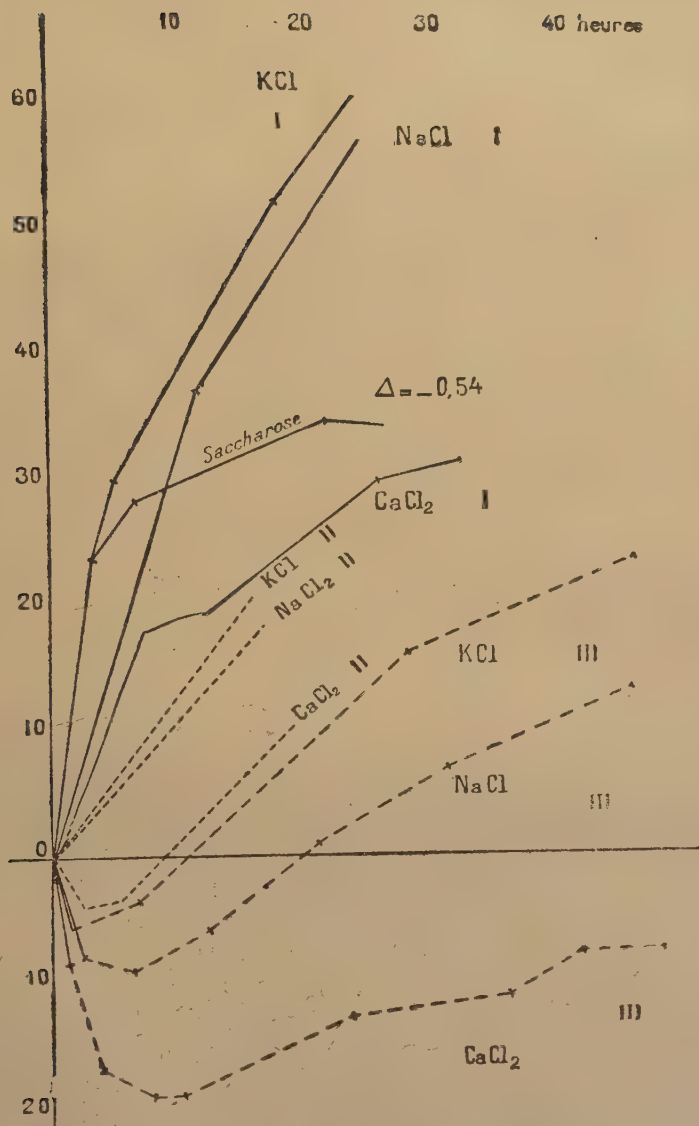
1° Si nous prenons pour type la solution de NaCl à 7 0/00, nous voyons que des encéphales immergés dans KCl isotonique subissent toujours une augmentation de poids plus considérable que dans NaCl , et cela, à quelque *temps* qu'on les pèse (1).

Au contraire, les encéphales immergés dans CaCl^2 isotonique subissent toujours une augmentation de poids *moindre* que dans NaCl (2).

(1) Un seul encéphale (l'encép. 8), a atteint dans NaCl un maximum supérieur à ceux atteints par les encéphales immergés dans KCl isotonique ; mais c'est un cas exceptionnel qui n'infirme pas la règle générale.

(2) Voir notre note à la Société de Biologie, T. 77, page 70, juin 1914.

Planche IV



Pour établir ces courbes, nous avons tracé celles qui étaient fournies par les chiffres réels portés sur le tableau précédent ; puis nous avons établi, d'après ces courbes réelles, un tracé moyen compris entre les chiffres extrêmes relevés dans le cours de nos expériences : c'est l'ensemble de ces tracés moyens qui sont transcrits sur la planche IV,

2° Tandis que les différences de poids subies par des encéphales immergés dans NaCl et KCl et pesés aux mêmes *temps*, sont relativement peu sensibles, il n'en n'est pas de même des différences que nous notons entre l'action de NaCl et celle de CaCl_2 . L'augmentation de poids dans CaCl_2 est toujours *beaucoup* moins élevée que dans NaCl .

3° Tandis que les courbes de variations de poids fournies par les encéphales immergés dans KCl sont de *même direction* que celles fournies dans NaCl , il n'en n'est pas de même des courbes fournies par les encéphales immergés dans CaCl_2 . Dès la 6^e heure, l'accroissement de poids dans CaCl_2 diminue sensiblement.

En effet, dans les 6 premières heures, l'accroissement moyen par heure était de 2,6 centigrammes ; alors que de la 6^e à la 22^e heure, l'accroissement moyen par heure n'était que de 0,50 centigrammes.

1° Nous tenons à insister tout particulièrement sur ce fait : c'est que la remarque que nous venons de faire sur les variations de la vitesse d'accroissement de poids dans CaCl_2 n'empêche pas que *qualitativement* CaCl_2 agit dans le même sens que KCl et NaCl . Les trois sels exercent une action *restrictive* sur l'imbibition du tissu nerveux par l'eau. Cette action restrictive est *quantitativement* beaucoup plus marquée dans CaCl_2 que dans NaCl ; mais, nous le répétons, ce n'est là qu'une question *quantitative* et il ne nous paraît pas plus juste de dire que CaCl_2 exerce une action antagoniste vis-à-vis de NaCl , que de prétendre que NaCl est antagoniste de KCl sous prétexte que le premier exerce toujours une action restrictive plus marquée que le second.

Pour que CaCl_2 pût être considéré dans nos expériences comme antagoniste de NaCl et KCl , il faudrait que la courbe d'imbibition obtenue dans l'eau distillée se plaçât entre celle de NaCl et celle de CaCl_2 , on pourrait dire alors que les cations K et Na augmentent la perméabilité des tissus à l'eau, alors que le cation bivalent Ca^{2+} la diminuent ; mais nous savons que ce n'est pas le cas. Nous ne pouvons donc suivre les auteurs (1) qui considèrent le Ca comme exerçant cons-

(1) Voyez chap. V, les expériences de Lillie sur l'Arenicola, et les hypothèses de Osterhout, Spaeth et Clowes.

tamment sur la perméabilité cellulaire, une action antagoniste de celle qu'exercent le Na et le K. Si Lillie, entre autres, a observé dans ses expériences sur les cils vibratiles de l'arenicola, que les actions de Na et Ca étaient antagonistes, cela tient à ce que les réactions qui se produisent entre ces cils vibratiles et les deux sortes de cations, sont différentes de celles qui se passent dans nos encéphales. Il est d'ailleurs intéressant de faire observer que nous avons nous-même noté, dans nos expériences sur le muscle (1), que des solutions de NaCl et KCl à $\frac{N_2}{8}$ produisaient une augmentation de poids du muscle, alors qu'une solution équimoléculaire de CaCl₂ produit d'abord une diminution de poids suivie quelquefois de réimbibition du tissu musculaire. C'est encore une preuve que chaque tissu réagit à sa manière aux solutions qui le baignent, et que les interactions entre un tissu et son milieu ambiant, ne sont pas conditionnées par des phénomènes osmotiques ; mais si nous insistons si lourdement sur la concordance *qualitative* de l'action exercée sur les encéphales par KCl et NaCl d'une part et celle exercée par CaCl₂ d'autre part, c'est que certains auteurs, se fondant sur des expériences d'ailleurs fort intéressantes, ont cru pouvoir émettre une théorie *générale* de la perméabilité cellulaire échafaudée sur l'antagonisme du calcium et des sels alcalins. Nous reviendrons sur ce sujet dans nos conclusions.

Saccharose. — Dans une solution de saccharose isotonique = à une solution de KCl dont le point cryoscopique est $\Delta = -0,54$, les variations de poids de l'encéphale suivent, pendant les premières heures, une courbe qui se confond avec celle observée dans KCl ; mais vers la cinquième ou la sixième heure, la vitesse d'accroissement dans le saccharose diminue brusquement pour donner une courbe à peu près parallèle à celle fournie par une solution de CaCl₂ isotonique ; toutefois l'augmentation de poids est plus marquée dans le saccharose que dans une solution de CaCl₂.

(1) Voyez page 294.

Solutions du deuxième groupe.

EXPÉRIENCE 24

Les encéphales ont été immergés dans des solutions de concentration = à 1,2 N et répondant à une solution de NaCl à 70 0/00.

Encéphales	Kcl 1,2 N		NaCl 1,2 N		CaCl ² 1,2 N	
	44.	45.	46.	47.	48.	49
Après immersion d' 1 heure	poids init. + 1,3	poids init. + 1,3	poids init. + 2	poids init. + 2	poids init. + 4,6	poids init. + 4,5
2 »	+ 1,3	+ 1,3	» + 3	» + 3	- 5	- 4
3 »	+ 5,4	+ 2,3	» + 3	» + 3	- 6	- 4
5 »	5,4	6	1	8	- 5,2	- 4
16 »	+ 21	+ 23	+ 9	+ 18	+ 6	+ 5
24 »	31	27	14	24	8	9
28 »	+ 33	+ 30	+ 14	+ 26	+ 10	+ 13
45 »	+ 48	+ 51	+ 25	+ 33	+ 20	+ 22

a) Nous voyons que dans NaCl à 1,2 N, un des encéphales (46), reste pendant 3 heures sans changer de poids, ce qui justifie bien pour la solution en question, le nom de solution-limite.

b) Dans KCl isotonique, un des encéphales (44), reste invariable comme l'encéphale 46 immergé dans NaCl à 1,2 N. Comme nous savons qu'il y a peu de différence entre les courbes fournies par les solutions de NaCl et KCl du premier groupe, cette similitude des résultats entre KCl et NaCl à 1,2 N, ne doit pas nous surprendre. L'encéphale 45 diminue très légèrement de poids (1,3 0/0) ; ceci est anormal puisqu'un encéphale doit toujours peser *plus lourd* (1) dans KCl que dans NaCl ; mais il faut tenir compte : 1° des différences individuelles, 2° de ce que la diminution de poids est extrêmement faible, 3° de ce que notre méthode expérimentale n'est exacte qu'à 1 centigramme près (2), enfin, 4° de ce que entre la 3^e et la 5^e heure, il atteint le même poids que l'encéphale 44, et qu'à partir de la 16^e heure, les deux encéphales imbibés dans KCl présentent un accroissement de

(1) Voyez page 340.

(2) Voyez page 290,

poids nettement supérieur à celui des encéphales imbibés dans NaCl , ce qui rentre dans la loi générale.

c) Dans CaCl^2 isotonique, on constate que pendant les 3 premières heures, les encéphales descendent au-dessous de leur poids initial ; ce n'est qu'à partir de la 3^e heure que la diminution de poids s'arrête et que les tissus commencent à se réimbiber.

Dans la période d'augmentation de poids qui succède à la période de descente, l'accroissement de poids est toujours moindre dans CaCl^2 que dans NaCl et KCl , ce qui confirme ce que nous avons constaté pour les solutions du premier groupe, à savoir que la différence dans les variations est beaucoup plus sensible entre celles qui se produisent dans CaCl^2 et NaCl qu'entre celles qui se manifestent dans NaCl et KCl .

Solutions du troisieme groupe.

EXPÉRIENCE 25

Les solutions étudiées dans cette expérience sont des solutions de KCl , NaCl et CaCl^2 de concentration égale à 2,4 N (ce qui correspond à une solution de NaCl à 110 0/00).

Voici le résultat de nos pesées.

	KCl 2,4 N			NaCl 2,4 N			CaCl^2 2,4 N		
	50.	51.	52.	53.	54.	55.	56.	57.	58.
Après immers. d' 1 heure	— 6	— 7	— 6°/o	— 3	— 6	— 7°/o	— 6	— 7	— 8°/o
2 »	— 6	— 9	— 5	— 6	— 8	— 9	— 7	— 10	— 12
3 »	— 5	— 9	— 6	— 6	— 8	— 9	— 14	— 15	— 14
4 »	— 6	— 9	— 6	— 6,5	— 8	— 10	— 14	— 17	— 18
6 »	— 3	— 9	— 5	— 6	— 9	— 9	— 14	— 18	— 18
8 »	— 3	— 5	— 4	— 3	— 6	— 10	— 15	— 19	— 18
10 »	— 3	— 5	— 1	— 1	— 6	— 8	— 14	— 19	— 19
12 »	+ 1	+ 4	+ 1	— 1	— 6	— 6	— 14	— 18	— 16
20 »	+ 8	+ 4	+ 6	+ 5	P. init.	P. init.	— 11	— 15	— 15
23 »	12	7	9	8	2	1	— 10	— 13	— 14
27 »	+ 15	+ 9	+ 14	+ 8	+ 5	+ 3	— 7	— 13	— 12
35 »	+ 22	+ 15	+ 18	+ 8	+ 10	+ 14	— 6	— 12	— 10
47 »	+ 26	+ 24	+ 24	+ 12	+ 12	+ 16	— 3	— 9	— 8
52 »							— 2	— 9	— 6

Si nous considérons les chiffres fournis par NaCl , nous constatons, qu'après la 3^e heure d'immersion, les diminutions de poids observées sont de — 6, — 8, — 9 ; or, dans notre expérience 21, l'encéphale 32 nous avait donné, au bout de 3 heures, une diminution de poids de — 8 0/0, ce qui concorde avec les chiffres trouvés en opérant avec notre dernière solution de NaCl à 140 0/00.

On voit qu'à partir de la 4^e heure (encéphales 53 et 55), ou de la 6^e heure (encéphale 54), la diminution de poids s'arrête et que les tissus commencent à se réimbiber pour arriver, après 17 heures d'immersion, à une augmentation de poids de + 12 à + 16 0/0. Dans KCl , les résultats, au moins dans les premières heures, ne sont pas très différents. Les 3 encéphales qui avaient diminué de poids jusqu'à la 4^e heure, commencent également à se réimbiber à partir de ce moment-là. Mais la diminution de poids est *moindre* dans KCl que dans NaCl ; et l'augmentation de poids subie dans KCl à la 47^e heure, est beaucoup plus forte (deux fois sur trois, elle est exactement du double), que dans NaCl .

Au contraire, dans CaCl_2 , les encéphales diminuent de poids jusqu'à la dixième heure. La diminution de poids est presque deux fois plus notable que dans NaCl . La réimbibition est très lente : à la 47^e heure, les encéphales n'ont pas encore récupéré leur poids initial ; à partir de ce moment, leur poids reste presque stationnaire.

Pour résumer nos résultats sur l'action comparative de solutions isotoniques de KCl , NaCl et CaCl_2 , nous pouvons dire que, si nous prenons pour type une solution de NaCl , la différence observée entre l'action de NaCl et KCl , se produit toujours dans le même sens, c'est-à-dire que dans les solutions du premier et du deuxième groupe (0,12 N et 1,2 N), l'augmentation de poids est toujours plus grande dans KCl que dans NaCl ; et que dans les solutions du troisième groupe (2,4 N), la diminution de poids de la première phase est moindre et l'augmentation de poids de la seconde phase est plus considérable dans KCl que dans NaCl . *Par rapport à NaCl* , les solutions de CaCl_2 donnent des résultats inverse de ceux observés avec KCl . Dans les groupes I et II, l'augmentation de poids est toujours *moindre* avec CaCl_2 qu'avec NaCl .

En somme, toutes les fois que des encéphales sont immergés dans des solutions isotoniques de NaCl, KCl et CaCl², quelle que soit la concentration de ces solutions, et quel que soit le moment auquel on compare les variations de poids, les encéphales immergés dans KCl sont toujours plus lourds, et ceux immergés dans CaCl² sont toujours moins lourds que ceux immergés dans NaCl.

§ IV. — Influence de la température sur les phénomènes d'imbibition

La température à laquelle nous avons fait toutes nos expériences, oscillait autour de 15°. Des pesées faites à des températures un peu différentes, mais sur des encéphales immergés dans des solutions isotoniques d'un même sel, nous avaient montré que la température ne devait avoir qu'une très faible influence dans les phénomènes d'imbibition.

Nous avons tenu, cependant, à vérifier le fait directement.

EXPÉRIENCE 26

Le matériel employé consistait en fragments de cordons blancs de la moelle de bœuf immergés une heure et demie après la mort de l'animal dans une même solution de NaCl à 7 0/00. Nous avons versé dans 8 verres à expérience 20 centimètres cubes de NaCl à 7 0/00. Dans 4 de ces verres, la solution marquait sur le thermomètre une température de + 15° ; les 4 autres verres ont été entourés de glace et la température de la solution qu'ils contenaient maintenue à + 2°.

Voici le résultat des pesées.

	IMBIBITION				IMBIBITION			
	à				à			
	+ 15°				+ 2°			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Augm. de poids après 6 heures	+ 13	17	16	17	14	15	14	13
10	19	21	22	24	20	20	17	18
18	27	28	30	28	25	25	22	24
24	28	29	30	30	27	29	23	24
34	29	33	31	38	29	32	27	28
42	31	34	38	39	31	35	28	31

On voit qu'une différence de 13° n'exerce qu'une bien faible influence sur les phénomènes d'imbibition. L'élévation de température favorise *légèrement* l'imbibition des cordons blancs du bœuf.

§ V. — **Variations de poids subies par la substance blanche et la substance grise du cerveau de cheval, immergées dans des solutions de NaCl, KCl et CaCl².**

Puisque nos expériences sur les muscles et sur les encéphales d'oiseaux nous avaient appris qu'une même solution (CaCl² à 0,12 N, par exemple), produisait des variations de poids très différentes sur l'un et sur l'autre tissu, et que sur un même organe, des solutions isotoniques de divers sels produisaient également des variations de poids différentes, nous nous sommes demandé si, au sein d'un même organe — comme l'encéphale — les différents éléments cellulaires ne réagissaient pas chacun à leur manière, vis-à-vis de solutions identiques. Nous avons donc cherché à savoir comment réagissaient la substance grise et la substance blanche considérées *isolément*.

Il est évident que, pour ces recherches, nous ne pouvions plus nous adresser à l'encéphale de passereau où les substances grise et blanche sont intriquées l'une dans l'autre. Mais l'encéphale de cheval nous fournit un matériel très satisfaisant pour nos recherches. Bien qu'il soit très difficile d'obtenir des fragments de substance grise et de substance blanche absolument sans mélange, les résultats obtenus nous paraissent cependant très significatifs.

La technique opératoire fut la suivante : nous assistions au sacrifice du cheval à l'abattoir et notions l'heure à laquelle il était abattu ; l'encéphale était immédiatement retiré de l'animal et apporté le plus rapidement possible au laboratoire. Des fragments de substance grise et blanche étaient immédiatement découpés et placés dans des récipients disposés à l'avance en vue de l'expérience et contenant chacun 20 centimètres cubes de la solution que nous étudions. Le temps qui s'écoulait entre le moment où le cheval était frappé du coup de marteau et celui où les fragments de substance cérébrale étaient immergés dans leurs solutions res-

pectives, était de deux heures au plus. Voici les résultats de nos expériences.

Solutions du premier groupe. — Etude des variations de poids subies par les substances blanche et grise immergées dans KCl , $NaCl$ et $CaCl^2$ à 0,12 N ; température ambiante : 11° .

EXPÉRIENCE 27

Elle porte sur deux fragments de substance blanche et deux fragments de substance grise, immergés dans KCl à 0,12 N.

		Subst. blanche		Subst. grise	
Après	6 heures	16	20 $\%$	27	30 $\%$
	12 »	23	25	43	47
	18 »	33		48	
	24 »	39		58	
	28 »	47		63	

EXPÉRIENCE 28

Immersion de trois fragments de chaque substance dans $NaCl$ à 0,12 N.

		Subst. blanche			Subst. grise		
Après	6 heures	11	11	14 $\%$	23	16	22
	12 »	19	22	23	30	24	
	18 »	22		26	41	30	
	24 »	26		29	41	31	
	28 »	29		31			

EXPÉRIENCE 29

Immersion de deux fragments de chaque substance dans $CaCl^2$ à 0,12 N.

		Subst. blanche		Subst. grise	
Après	6 heures	9	6 $\%$	16	12
	12 »	12	9	18	15
	18 »	15	12	19	16
	24 »	18	15	19	16
	28 »	19	16		

Notons à propos de cette dernière expérience faite avec

CaCl_2 , qu'à partir de la 12^e heure, la *substance grise* augmente très lentement de poids ; de la 12^e à la 18^e heure, en effet, les deux fragments n'augmentent que de 1 0/0 de leur poids initial, et de la 21^e à la 28^e heure, leur *poids reste invariable*. Nous nous rappelons (1) que dans CaCl_2 à la même concentration (0,12 N), nous avons noté un ralentissement de l'imbibition à partir de la 6^e heure. Seulement, dans l'encéphale de passereau, la diminution de vitesse de l'accroissement de poids, à partir de la 6^e heure, était moins marquée qu'ici, parce que les deux substances grise et blanche se trouvant enchevêtrées dans l'encéphale de passereau, la réaction de la substance grise est mitigée par celle de la substance blanche qui, elle, continue à s'imbiber plus régulièrement, bien que, pesée aux mêmes heures que la substance grise, elle pèse moins lourd que cette dernière. D'après ce que nous venons de dire au sujet de la différence de vitesse d'accroissement de poids (2) de la substance grise et de la substance blanche, l'écart dans l'augmentation de poids de ces deux substances est d'autant plus considérable que nous pesons les fragments près du *début de leur immersion* ; et on conçoit qu'à la 24^e heure, l'imbibition de la substance blanche devienne presque égale à celle de la substance grise.

Cette remarque faite touchant le cas spécial de CaCl_2 , nous voyons que les expériences faites sur l'imbibition des substances grise et blanche dans les solutions du premier groupe, nous conduisent aux conclusions suivantes :

1^o Les substances grise et blanche varient de poids *dans le même sens* : toutes deux subissent une notable augmentation de poids.

2^o Quel que soit le sel envisagé, cette augmentation de poids est beaucoup plus considérable pour la substance grise que pour la substance blanche.

3^o Les trois sels étudiés agissent individuellement sur les substances grise et blanche du cerveau de cheval comme sur les cerveaux entiers d'oiseaux, c'est-à-dire, qu'en prenant

(1) Voyez pages 342 et suiv.

(2) A partir de la sixième heure.

NaCl pour type, l'augmentation est toujours plus considérable dans KCl et *beaucoup* moins considérable dans CaCl₂ que dans NaCl. Etudions maintenant les solutions du deuxième groupe.

Solutions du deuxième groupe : solutions-limite.

EXPÉRIENCE 30

Immersion de deux fragments de chaque substance dans KCl à 1,2 N (équimoléculaire à NaCl 70 0/00).

		Subst. blanche			Subst. grise		
Après	1 h. 1/2	+	2	+ 3 %	+	4	+ 1,4 %
	3	+	5	+ 4	+	9,3	+ 7
	6	+	6,5	+ 6,5	+	18	+ 9,5
	10	+	10	+ 5	+	19	+ 9,5

EXPÉRIENCE 31

Immersion de trois fragments de chaque substance dans NaCl à 1,2 N (70 0/00).

		Subst. blanche			Subst. grise		
Après	1 h. 1/2	— 2,6	+ 2	+ 3 %	+	1,5	— 3,8 + 1,7
	3 h.	+	1	+ 6 + 4	Poids init.	— 1	+ 3,5
	6 h.	+	6	+ 7 + 7	+	3	— 2 + 2
	10 h.	+	3	+ 1 + 8	+	3	+ 1 + 2

EXPÉRIENCE 32

Immersion de trois fragments de chaque substance dans CaCl₂ à 1,2 N.

		Subst. blanche			Subst. grise		
Après	1 h. 1/2	— 2	— 2	— 1	— 12	— 5	— 7
	3 h.	P. init.	— 2	— 4	— 9	— 2	— 6
	6 h.	— 5	— 1,5	— 3,5	— 7	— 3	— 8
	10 h.	— 6	— 5	— 7	— 7	— 2	— 1,5
	18 h.	— 7	— 4	— 7	— 9	+ 2	Poids init.
	25 h.	— 7	— 5	— 4	— 9	+ 2	»
	30 h.	— 9	— 2	— 3	— 9	+ 2	+ 1,5

On remarquera tout d'abord que dans les solutions-limite,

les résultats sont moins réguliers que dans les solutions du premier groupe.

Si nous prenons comme point de comparaison les variations de poids observées dans NaCl à 1,2 N, nous voyons que c'est tantôt la substance blanche, tantôt la substance grise qui pèse le plus lourd ; d'une façon générale, il semble que l'imbibition de la substance blanche tende à faire rentrer la solution dans celles du premier groupe, alors que l'imbibition de la substance grise s'imbibe beaucoup moins. Un des fragments de substance grise (le second) a même nettement l'allure d'un encéphale entier immergé dans une solution du troisième groupe : il diminue de poids dès le début et ne récupère le poids initial qu'entre la 6^e et la 10^e heure.

On se rappelle que les encéphales immergés dans KCl pèsent toujours plus lourd que ceux immergés dans NaCl . Or, puisqu'une solution de NaCl à 1,2 N constitue une solution-limite type, on comprend qu'une solution de KCl à égale concentration, agisse comme une solution du 1^{er} groupe, c'est-à-dire en produisant sur un cerveau entier une augmentation de poids plus considérable que NaCl à 1,2 N ; c'est ce que nous avons constaté page 344. Nous constatons, en effet, que dans l'expérience 30 la substance grise s'imbibe plus que la substance blanche, comme c'est le cas dans les solutions du 1^{er} groupe. Enfin, nous savons qu'une solution de CaCl_2 à 1,2 N agit sur le cerveau entier comme une solution du troisième groupe, c'est-à-dire en produisant une diminution de poids suivie de réimbibition. Or, nous remarquons que pendant les premières heures, la diminution de poids (qui est le phénomène dominant avec des encéphales entiers), est plus marquée pour la substance grise ; au contraire, dans les dernières heures où les encéphales entiers augmentent de poids (et où la réimbibition est, par conséquent, le phénomène dominant), c'est la substance grise qui, en général, se réimbibe plus vite et d'une façon plus marquée. En somme, si nous exceptons les expériences faites dans NaCl à 1,2 N, où les résultats ont tendance à se balancer (c'est la vraie solution-limite), on peut dire que dans les cas où un encéphale entier augmente de poids, c'est la substance grise qui s'imbibe le plus, et que, dans les cas où un encéphale entier diminue de poids, c'est la substance grise qui diminue le plus. Solutions du troisième groupe.

EXPÉRIENCE 33

Immersion de 3 fragments de chaque substance, dans KCl à 2,4 N.

		Substance blanche			Substance grise		
Après	1 h.	1,3	1,4	2,6	2	3	P. init.
	2	+ 3,7	+ 1,4	+ 5,2	P. init.	- 5	»
	3	+ 4	+ 4	+ 5,3	+ 1	- 1,2	+ 1,5
	5	+ 6	+ 6	+ 5,3	+ 6	P. init.	3
	7	+ 9	+ 10	+ 12	+ 8	+ 3	+ 7,8
	22	+ 14	+ 14	+ 12	+ 14	+ 15	+ 14

EXPÉRIENCE 34

Immersion de trois fragments de chaque substance dans NaCl à 2,4 N (140 0/00).

		Subst. blanche		Subst. grise		
Après	1 h.	- 1,3	Poids init.	- 4	- 2,6	- 4,5 0/0
	2	- 2,6	- 1,3	+ 1 0/0	- 4	- 4
	3	- 1,3	+ 1,3	Poids init.	- 4	- 2,6
	5	Poids init.	Poids init.	+ 4 0/0	- 1	- 1,3
	7	- 1,3	- 3	+ 7,8	P. init. 1	1,3
	22	+ 4	+ 6	+ 15	+ 6	+ 6

EXPÉRIENCE 35

Immersion de deux fragments de chaque substance dans CaCl à 2,4 N.

		Subst. blanche		Subst. grise	
Après	1 h.	- 6	- 4 0/0	- 8	- 9 0/0
	3	- 12	- 10	- 14	- 14
	5	- 13	- 11	- 16	- 14
	7	- 14	- 12	- 16	- 13
	22	- 16	- 15	- 16	- 15

Nous nous rappelons que dans les solutions du 3^e groupe isotoniques à NaCl à 2,4 N, les encéphales entiers subissaient dans les premières heures, une diminution de poids suivie d'une réimbibition. Or, nos expériences sur les substances

grise et blanche du cerveau de cheval, nous ont donné les résultats suivants :

	KCl	NaCl	CaCl ²
Subst. grise	— 2 ‰	— 4 ‰	— 8 ‰ à 9 ‰
Subst. blanche	+ 1,3 à 2,6 ‰	Poids initial	— 4 ‰ à 6 ‰

Ainsi le phénomène caractéristique de l'expérience (diminution de poids du début), est beaucoup plus marqué pour la substance grise que pour la substance blanche. Cette diminution de poids de la substance grise est moins marquée dans KCl que dans NaCl, et *beaucoup* moins marquée dans NaCl que dans CaCl². Nous voyons donc que quel que soit le sel étudié et quelle que soit la direction de la courbe d'imbibition, et enfin, quel que soit le groupe de solutions envisagé, c'est la substance grise qui influe le plus sur le sens du phénomène (1).

(1) Voir notre note à la Société de Biologie, 27 juin 1914.

CHAPITRE III

Modifications histologiques observées sur des cellules contiguës mais de constitution différente et préalablement immergées dans de l'eau distillée et dans des solutions de NaCl, KCl et CaCl².

Généralités. — Nos expériences comparatives sur les muscles de grenouilles et sur les encéphales de passereaux, nous ont appris que des tissus différents s'imbibent d'une façon particulière à chacun d'eux. Nos expériences sur les substances grise et blanche du cerveau de cheval nous ont fait faire un pas de plus dans l'étude des phénomènes d'imbibition, en nous montrant que, dans un même organe, des régions différentes (écorce cérébrale et substance blanche), réagissaient également d'une façon propre à chacune d'elles. Puisqu'en somme, chacune de ces régions n'est que l'ensemble des cellules qui la constituent, il était à supposer que, dans une même région, chaque cellule devait avoir son mode de réaction propre. C'est ce que nous avons cherché à vérifier en étudiant les modifications subies par les différents éléments cellulaires qui constituent la *région des cellules de Purkinje* et celle des *grains*. C'est sur des cervelets de passereaux qu'ont porté nos coupes histologiques. La région des cellules de Purkinje et celle des grains forment, dans toutes les préparations, des images comparables. Les pièces fixées à l'alcool ont été colorées à l'éosine et au bleu de méthylène.

A propos de la fixation des tissus à l'alcool, il ne nous paraît pas inutile de faire quelques observations sur la valeur des renseignements que peuvent nous fournir les coupes histologiques. On se rappelle qu'en 1914, L. Lapicque

et R. Legendre (1) montrèrent combien les images microscopiques de nerfs examinés à l'état vivant, étaient différentes de celles que ces mêmes nerfs présentaient après avoir subi les préparations généralement usitées en histologie. Nous avons cherché à déterminer le degré de deshydratation qu'avaient subi nos pièces après leur séjour dans l'alcool à 90°.

Rappelons incidemment que le mot « *deshydratation* » doit être pris, ici, dans le sens de *perte de LIQUIDE* et non pas dans le sens de *perte d'EAU* ; car, non seulement nous n'avons pas le droit d'affirmer que cette dernière n'entraîne pas avec elle des substances en solution, mais il semble que ce soit l'hypothèse contraire qui soit la plus probable (2).

Deshydratation du tissu nerveux dans l'alcool à 90°. — Ayant immergé dans 20 centimètres cubes d'alcool à 90° un encéphale normal, (c'est-à-dire qui venait d'être retiré de l'animal immédiatement après sa mort, et qui n'avait subi aucune immersion), nous avons constaté, qu'après 20 heures d'immersion dans l'alcool, il perdait 39 0/0 de son poids initial : il pesait, en effet, 71 centigrammes avant d'être placé dans l'alcool, et pesait 43 centigrammes 20 heures après son immersion. Or, en laissant cet encéphale dans le même alcool et en le pesant deux fois par jour, du 19 décembre (date à laquelle il pesait 43 centigrammes), au 27 décembre 1913, nous constatâmes qu'il gardait sensiblement le même poids (43 à 44 centigrammes). On peut donc dire qu'après 20 heures d'immersion dans l'alcool à 90°, un cerveau normal a subi une deshydratation définitive de 39 0/0 de son poids initial.

Coefficients de deshydratations. — Nous avons immergé ensuite trois encéphales dans l'eau distillée pendant des temps différents.

Le premier pendant 20 minutes :	il avait augmenté de 12 % (3)
Le second » 1 heure :	» 24 %
Le troisième » 4 » :	» 56 %

(1) L. Lapique et R. Legendre. Compt. rendus de l'Acad. des Sciences 1914.

(2) Voir la note 2, chap. III, page 80.

(3) Par rapport à son poids initial.

Immédiatement après ces pesées, les encéphales furent immergés dans 20 centimètres cubes d'alcool à 90°. Nous nous attendions à ce que plus un encéphale s'était imbibé d'eau, plus il abandonnerait de liquide à l'alcool. C'est évidemment ce qui devrait se produire si l'entrée et la sortie de l'eau étaient conditionnées par des phénomènes osmotiques ; car, dans cette hypothèse, il était à prévoir que, plus un encéphale s'imbiberait d'eau, plus la pression intérieure du prétendu système osmotique diminuerait de valeur, et plus, par conséquent, le courant osmotique de dedans en dehors deviendrait intense et rapide lorsque l'encéphale serait mis en présence d'alcool. Mais ce n'est pas ce qui se produit.

Quel que soit le poids définitif de l'encéphale après son immersion dans l'eau, quelle que soit la quantité d'eau dont il s'est imbibé, son poids définitif (la somme de son poids initial + du poids d'eau dont il s'est imbibé), perd exactement 39 0/0 de sa valeur.

On se rappelle que c'est précisément la perte de poids que subissait un cerveau *normal* imbibé dans l'alcool. Il semble donc qu'il y ait pour l'encéphale une *constante de deshydratation*, quelle que soit l'origine du liquide qu'il abandonne, que ce liquide ne soit que du liquide de *constitution*, comme c'est le cas pour l'encéphale normal non imbibé d'eau, — ou que ce liquide soit la somme de son liquide propre (de constitution, liquide tissulaire), additionné de son *eau d'imbibition*. De là, cette conséquence : c'est que pour un cerveau n'ayant pas été immergé dans l'eau, les 39 0/0 de liquide soustraits par l'alcool le sont exclusivement aux dépens de son liquide de constitution, et que plus un cerveau préalablement immergé dans l'eau se sera imbibé, moins l'alcool, qui soustraira toujours la même quantité d'eau (39 0/0), touchera à son liquide de constitution. C'est ce que montrent les chiffres suivants :

Appelons *deshydratation globale* la perte de liquide, subie dans l'alcool, par l'encéphale, par rapport au poids qu'il avait au moment de sa sortie de l'eau et avant d'être placé dans l'alcool ; et appelons *deshydratation tissulaire* la perte de poids subie dans l'alcool par rapport au poids initial du cerveau avant son immersion dans l'eau. Nous pourrions alors établir le tableau suivant :

	Poids initial	Poids global après immersion dans H ₂ O	Augment. de poids en %	Poids après deshydratation dans alcool	Perte de poids par rapport au poids global	Coefficient de deshydratation	Perte de poids par rapport au poids initial deshydratation tissulaire)
Cerveau nor. 71 cgr.	71 cgr.	0	43 cgr.	28 cgr.	39 %	28cgr. = 39%	
Cerveau immergé							
dans H ₂ O 20 m.	73 »	82 »	+ 12 %	50	32	39 %	23 = 31%
1 h ^{re} .	77 »	96 »	+ 24 %	59	37	39 %	18 = 23%
4 h ^{res} .	87 »	136 »	+ 56 %	84	52	39 %	3 = 3,4%

On voit immédiatement que les chiffres qui marquent la deshydratation globale sont une constante : 39 0/0. On voit ensuite que l'encéphale normal qui pesait 71 centigrammes a dû emprunter les 28 centigrammes ou 39 0/0 de liquide que lui a soustraits l'alcool à son liquide de constitution, alors que le dernier encéphale (préalablement immergé dans l'eau pendant 4 heures) *pesait presque le même poids* (84 centigrammes), après sa deshydratation dans l'alcool qu'à l'état normal, avant son immersion dans l'eau (87 centigrammes). Les 39 0/0 de liquide que lui a soustraits l'alcool proviennent donc presque entièrement de son *eau d'imbibition* qu'il a rendue, et il n'a emprunté que 3 0/0 de liquide à ses propres tissus.

Cette simple constatation montre combien il faut être prudent dans l'interprétation des coupes histologiques, et combien il est nécessaire d'être fixé sur la valeur des termes que l'on emploie. Ainsi, nous examinerons plus loin des coupes fournies par un encéphale immergé dans l'eau pendant 1 heure et nous la comparerons à la coupe fournie par un encéphale non immergé que nous appellerons, pour cette raison, *normal*. Or, si ce second encéphale était *normal* avant son immersion dans l'alcool, il est évident, qu'après avoir abandonné à ce dernier 39 0/0 de son liquide, les figures que nous offrent ses coupes ne doivent pas du tout ressembler à ce qu'elles sont en réalité. Il est à supposer que ses éléments histologiques ou, au moins certains d'entre eux, ont diminué considérablement de volume. Peut-être aussi leur forme a-t-elle été, par cela même, altérée. D'autre part, nous ne sommes pas certains que tous les éléments

(cellules de Purkinje, grains, etc.), aient éliminé du liquide dans les mêmes proportions. Nous verrons même que dans certaines solutions salines, les variations de volume des grains suivent une marche inverse de celles des cellules de Purkinje. Enfin, puisqu'un encéphale immergé dans l'eau pendant 4 heures, n'abandonne que 3 0/0 de son liquide tissulaire, ne serait-on pas tenté de dire que plus un encéphale est anormal (c'est-à-dire que plus il se sera laissé imbiber d'eau), plus les coupes que nous ferons *après deshydratation dans l'alcool*, se rapprocheront de ce qu'est un cerveau normal *dans la réalité* ? Il faut d'ailleurs faire observer qu'une telle façon de parler ne serait pas justifiée, car il est évident qu'un encéphale n'a pas subi une hydratation et une deshydratation successives aussi considérables, sans que ses éléments n'aient été profondément troublés : c'est ce que nous montreront nos coupes ; et bien que ces dernières ne sauraient avoir qu'une *valeur comparative*, nous verrons qu'elles peuvent cependant nous fournir des renseignements intéressants.

Influence des électrolytes et de leur concentration sur les coefficients de deshydratation des tissus de l'encéphale.
— Avant d'aborder la lecture de nos coupes, nous avons cherché à élucider encore certaines questions touchant l'action des électrolytes sur la deshydratation des encéphales.

Puisqu'un encéphale normal (n'ayant subi aucune immersion), perd dans l'alcool autant de liquide qu'un encéphale préalablement immergé dans l'eau, et quelle que soit la quantité d'eau que ce dernier ait absorbée, nous avons à nous demander si la constante de deshydratation globale (39 0/0), observée sur nos encéphales affectait simplement les tissus normaux et ceux qui avaient été immergés dans l'eau, ou bien si cette constante affectait les tissus encéphaliques, en général, quelle que fût la solution saline dans laquelle ces tissus auraient été immergés.

Dans ce but, nous avons immergé des encéphales dans des solutions de NaCl, KCl et CaCl² à différentes concentrations, et nous avons noté, pour chaque encéphale, les points suivants :

1° *Durée de l'imbibition.*

2° *Variations de poids de l'encéphale dans la solution envisagée.*

3° *Deshydratation globale* (rapport du poids de l'encéphale après sa deshydratation dans l'alcool au poids qu'il avait après son immersion dans la solution).

4° *Deshydratation tissulaire* (rapport du poids après la deshydratation dans l'alcool au poids initial de l'encéphale avant son immersion dans la solution).

Nous avons pu ainsi établir le tableau ci-contre.

Les coefficients de deshydratation sont une constante pour une solution donnée. — a) Remarquons d'abord que pour chaque solution, les chiffres qui indiquent la *deshydratation globale* sont assez rapprochés les uns des autres pour éveiller l'idée d'une *constante de deshydratation globale*.

Exemple : dans NaCl à 0,12 N, les deux encéphales qui ont subi une augmentation de poids de 35 et 51 0/0, ont tous deux le même coefficient de deshydratation globale : 42 0/0.

Dans NaCl à 1,2 N, les 3 encéphales ont des coefficients de deshydratation globale très près l'un de l'autre : 46, 46 et 48 0/0.

Enfin, dans NaCl à 2,4 N où deux encéphales sur trois ont subi une diminution de poids et le troisième une augmentation de poids, les coefficients de deshydratation globale sont de 54, 57, 58 0/0. Notons que les deux coefficients les plus voisins (57 et 58 0/0), se rapportent précisément à deux encéphales dont l'un présente une diminution de poids de — 1 0/0, alors que l'autre présente une augmentation de poids de + 7,5 0/0. Cette remarque nous paraît particulièrement intéressante, elle montre que dans les solutions salines à 2,4 N, caractérisées par la diminution de poids qu'elles conditionnent pendant les premières heures et la réimbibition qui succède, les tissus sont affectés de la même constante de deshydratation pendant leur période de réimbibition que pendant leur période de diminution de poids. La période de réimbibition est donc bien un phénomène physiologique et non pas un accident *post mortem*, comme le pensait Lœb (voyez page 336).

En somme, il semble bien, qu'à part quelques chiffres

Imbibition dans H_2O

Durée de l'imbibit :	0	20 m.	1 h ^{re}	4 h ^{res}
Variat. de poids	0	+ 12 %	- 24	- 56
Deshydrat. globale	39 %	39 %	39 %	39 %
Deshydrat. tissul.	39 %	31 %	23 %	3 %

Imb. dans NaCl à 0,12 N. (7° 00').		K ₂ Cr ₂ O ₇ 0,12 N.		CaCl ₂ 0,12 N.	
Durée de l'imb.	24 h.	12 h.	24 h.	12 h.	24 h.
Var. de poids	+ 35	— 58	— 38	— 35	— 38
Deshydr. globale	— 42	— 47	— 33	— 30	— 33
Deshydr. tissul.	— 20	— 15	— 13	— 4	— 8
				62 %	51 %
				40 %	36 %
				4 %	8 %

	KCl à 1,2 N.	CeCl ₂ à 1,2 N.
Imb. dans NaCl à 1,2 N (70 ‰),		
Durée de l'imb.	1 h.	12 h.
Variat. de poids	— 0	— 3,6
Deshydrat. glob.	— 46	— 39 ‰
Deshydrat. tissul.	— 46	— 32 ‰

à 2,4 N (140 °/oo),	KCl à 2,4 N.			CaCl ₂ à 2,4 N.		
	1 h.	1/2	4 h.	1 h.	3 h.	12 h.
Imb. dans NaCl.	—	—	—	—	—	—
Durée de l'imb.	—	—	—	—	—	—
Var. de poids	—	—	—	—	—	—
Deshydr. glob.	—	—	—	—	—	—
Deshydr. fissul.	—	—	—	—	—	—

aberrants, le coefficient de deshydratation global soit une constante indépendante des variations de poids subies par l'encéphale, mais fonction de la *nature* du sel en solution et de sa concentration.

b) Il ressort, en effet, du tableau précédent que le coefficient de deshydratation globale varie :

1° *Pour une même concentration avec chaque sel.* Ainsi, dans NaCl à 0,12, ce coefficient est de 12 0/0 ; dans CaCl² équimoléculaire, il est de 36, 33, 38 ; chaque cation, à égale concentration, confère donc au tissu nerveux une *résistance donnée* à sa deshydratation globale. Cette résistance tient à une propriété nouvelle dont chaque sel a gréé la substance nerveuse, puisque cette résistance est indépendante de la quantité de liquide dont s'est imbibé l'encéphale. Voici un autre exemple qui nous paraît confirmer ce que nous venons de dire.

Dans les solutions de NaCl, KCl et CaCl² à 2,4 N nous trouvons trois encéphales qui, au bout de temps variables, ont récupéré leur poids initial (1) :

Le premier	après avoir été immergé dans NaCl pendant 4 h. (— 1 °/0).
Le second	» » » KCl » 3 h. (± 0).
Le troisième	» » » CaCl ² » 12 h. (± 0).

Le premier présente une deshydratation globale de 57 0/0 ; le second de 51 0/0 et le troisième de 48 0/0. Or, ces chiffres ne tiennent pas au hasard, puisque chacun d'eux se retrouve (à peu près) chez les autres encéphales qui ont subi une variation de poids différente, mais qui ont été immergés plus ou moins longtemps dans la même solution. Puisque ces trois encéphales pèsent le même poids quand on les immerge dans l'alcool, la différence entre leurs coefficients de deshydratation ne peut tenir qu'à l'action des sels dissous, et aux propriétés que chacun d'eux a conférées au tissu qui y était imbibé. Mais voici une remarque plus intéressante encore. Comparons la deshydratation globale :

1° de l'encéphale normal qui n'a subi aucune imbibition dans l'eau,

(1) Après avoir subi une diminution de poids au début de l'immersion, comme c'est la règle dans les concentrations égales à 2,4 (3^e groupe).

à celle, 2° de l'encéphale immergé pendant une demi-heure dans NaCl à 1,2 N (solution-limite).

Ces deux encéphales n'ont jamais changé de poids, avant leur deshydratation dans l'alcool, le premier parce qu'il n'a jamais été imbibé, le second parce qu'il a été immergé dans une solution-limite dont la caractéristique est de laisser, pendant la première heure, le poids de l'encéphale invariable.

Or, pour le premier encéphale (normal), la deshydratation globale est de 39 0/0, pour le second, la deshydratation globale est de 46 0/0 ; ces deux chiffres méritent bien la dénomination de *constantes*, car l'encéphale normal comme tous ceux qui ont été imbibés dans l'eau ont le même coefficient de deshydratation globale (39 0/0) et dans le cas de NaCl à 1,2 N les encéphales, malgré les différences de leurs variations de poids, ont sensiblement le même coefficient de deshydratation globale 46, 46, 48 0/0. N'est-il pas évident que dans les deux encéphales envisagés, la constante de deshydratation, ou ce qui revient au même, leur constante de teneur en eau, — de puissance de rétention d'eau — n'a pu être modifiée que par l'action du NaCl à 1,2 N dans le cas du deuxième encéphale ?

c) En ce qui concerne la *deshydratation tissulaire*, nous constatons, comme nous l'avons fait pour les encéphales imbibés dans l'eau pure, que plus un cerveau s'est imbibé dans quelque solution que ce soit, moins la deshydratation tissulaire est marquée (ce qui est d'ailleurs un corollaire de la constance du coefficient de deshydratation).

Il est évident, d'autre part, que pour les encéphales immergés dans des solutions du 3^e groupe (2,1 N), puis placés dans l'alcool *pendant la période de diminution de poids*, la deshydratation tissulaire sera supérieure à la deshydratation globale.

En résumé, il semble bien que si la deshydratation tissulaire est fonction des variations de poids subies par les tissus, *il n'en soit pas même de la deshydratation globale qui, elle, est représentée par une CONSTANTE pour chaque solution saline à une concentration donnée. Cette constante est fonction des modifications qui se sont produites à la suite de*

l'imbibition, dans l'équilibre primitif des constituants cellulaires.

C'est à cette même conclusion qu'aboutissent MM. Mayer et Schaeffer dans le mémoire que nous analyserons plus loin. Nous n'avons pas la prétention de comparer notre modeste mémoire au remarquable travail de ces auteurs, mais nous sommes heureux que nos recherches, dont quelques-unes ont été publiées en 1913 et 1914, nous aient conduit par une autre voie à la même conception que la leur.

§ III. — **Examen des coupes microscopiques**

Voyons maintenant ce que nous enseignent nos coupes histologiques.

A. **Cervelet immergé pendant une heure dans l'eau pure.** — Son poids initial avait augmenté de 24 0/0. Après son immersion dans l'alcool, il avait reperdu 39 0/0 de son poids total, mais seulement 23 0/0 de son poids initial. Or, si nous le comparons à un *cervelet type*, que nous n'avons pas préalablement immergé dans l'eau, et qui a perdu 39 0/0 de son poids initial au lieu de 23 0/0, nous remarquons que le cervelet imbibé d'eau présente des cellules de Purkinje déformées, *déchiquetées, et que leur volume est diminué*; leur noyau est peu visible. *Les grains sont également diminués*, et affectent une forme polyédrique au lieu d'être sphériques comme à l'état normal.

Nous comprenons que des cellules de Purkinje et des grains qui ont participé à une imbibition de 24 0/0, puis à une deshydratation intense, soient déformés; mais n'est-il pas curieux de constater qu'un cervelet qui a séjourné dans l'eau ait des cellules de Purkinje et des grains plus petits qu'un cervelet non imbibé; n'est-ce pas d'autant plus incompréhensible que la deshydratation tissulaire du cervelet imbibé est beaucoup moins notable (23 0/0), que celle du cervelet normal (39 0/0)? Nous ne pouvons nous expliquer ce fait qu'en admettant que les différents éléments histologiques ont des constantes de deshydratation différentes, c'est-à-dire qu'ils sont gréés chacun d'un pouvoir de rétention d'eau plus ou moins grand, et que, par suite de l'irrup-

tion de l'eau d'imbibition, le pouvoir de rétention d'eau a été modifié : *diminué* dans certains éléments (cellules de Purkinje et grains), qui ont alors diminué de volume, et *augmenté* dans d'autres éléments de l'encéphale, puisqu'en définitive, un encéphale immergé dans l'eau en garde toujours plus qu'un encéphale non immergé.

B. Actions des électrolytes. — *Cervelet immergé dans KCl à 1,2 N (solution-limite).* — Prenons un cervelet immergé dans cette solution pendant une demi-heure, et n'ayant pas changé de poids. Notons d'abord que si un cervelet immergé dans l'eau pure augmente de 12 0/0 en 20 minutes, il faut, pour qu'un cervelet immergé une demi-heure dans KCl à 1,2 N n'ait pas augmenté de poids, que ce KCl ait modifié les constantes cellulaires d'une façon telle que le pouvoir d'imbibition des tissus encéphaliques ait été complètement inhibé. Mais il se pose ici deux questions difficiles à résoudre.

La première est relative à la deshydratation dans l'alcool. La deshydratation tissulaire (qui se confond ici avec la deshydratation globale, puisque l'encéphale n'a pas augmenté de poids), et de 11 0/0 ; c'est, d'ailleurs, sensiblement le même chiffre que l'on retrouve pour tous les encéphales immergés soit dans NaCl soit dans KCl à 1,2.

Or, comment se fait-il que l'encéphale normal (qui ne s'était pas plus imbibé que celui-ci, ait abandonné 39 0/0 de son eau à l'alcool, alors que celui immergé dans KCl à 1,2 en ait abandonné 41 0/0 ? MM. Mayer et Schaeffer ont attiré l'attention sur l'influence des électrolytes, sur les lipoides cellulaires et sur la propriété qu'ont ces corps de fixer de l'eau. Peut-être pourrait-on songer à ce que les sels KCl et NaCl à 1,2 N ont diminué le pouvoir de fixation d'eau des lipoides encéphaliques. Mais ici se pose une seconde question.

Puisque notre encéphale n'a pas changé de poids pendant son immersion, comment la solution saline a-t-elle pu agir sur lui, puisqu'elle n'a pas imbibé ses tissus ? Nous n'en savons rien. Cependant, l'examen microscopique nous montre que certains éléments cellulaires ont été modifiés.

Les cellules de Purkinje ne sont pas diminuées, mais le réseau nucléaire est invisible. Les corps de Nissl n'ont pas disparu, *mais sont moins nets que sur un cervelet normal ;*

enfin, on note de petites vacuoles dans leur protoplasma. Les grains ont sensiblement la même taille qu'après immersion dans NaCl à 0,12 N, c'est-à-dire qu'ils sont diminués.

Comment concilier ces modifications histologiques avec l'absence d'imbibition ? Peut-on songer à faire l'hypothèse suivante ?

Les particules colloïdes en suspension (comme c'est le cas des colloïdes cellulaires), sont chargées négativement ; ne pourrait-on pas admettre que les cations K^+ soient attirés hors de leur solution par ces particules colloïdes et qu'ils aient pénétré seuls dans les cellules ? Il suffirait d'admettre que la force attractive des particules chargées négativement fût supérieure à la force d'attraction exercée par les ions Cl^- sur les ions K^+ . L'extrême petitesse des ions et la valeur infinitésimale de leur masse, feraient que les ions seraient pratiquement impondérables, ce qui laisserait, en apparence, à l'encéphale, son poids initial, tout en modifiant le pouvoir de fixation d'eau de ces lipoïdes ? C'est une hypothèse que nous ne saurions justifier en aucune manière. Disons, cependant, que difficile à concilier avec l'existence d'une membrane cellulaire qui s'opposerait plus ou moins énergiquement au passage d'ions, notre hypothèse nous paraît parfaitement conciliable avec la théorie de MM. Mayer et Schaeffer qui exclue l'idée d'une membrane cellulaire, ce qui permettrait de comprendre que les ions, parvenant sans difficulté au contact des lipoïdes chargés négativement, modifiassent les propriétés hydrophiles de ces derniers.

Cervelets immergés dans NaCl à 0,12 N (7 0/00), pendant 12 heures.

Les cellules de Purkinje sont allongées, un peu diminuées, mais plus colorées que dans des cervelets intacts ; elles contiennent quelquefois deux nucléoles. Les grains d'alentour sont beaucoup plus petits et plus colorés qu'à l'état normal.

Cervelets immergés dans KCl à 0,12 N pendant 12 heures.

Les cellules de Purkinje sont plus déformées que dans NaCl, un peu vacuolisées (petites vacuoles) ; les noyaux, les nucléoles et le réseau nucléaire sont moins visibles qu'à l'état normal.

Si on compare les *grains* à ceux des cervelets immergés dans NaCl , on voit que leur volume est plus considérable *sans cependant atteindre celui des grains d'un cervelet* normal. Leur noyau est beaucoup moins distinct ; et, dans leur ensemble, ils paraissent beaucoup plus clairs qu'après immersion dans NaCl .

Cervelets immergés dans CaCl^2 à 0,12 N pendant 12 heures.

La forme des cellules de Purkinje est bien conservée ; mais leur volume est diminué. Les corps de Nissl sont nets et bien colorés.

Les *grains* sont d'un bleu intense, ce qui rend leur noyau absolument invisible. Leur volume est sensiblement moindre que dans les cervelets normaux ou traités par NaCl et KCl .

Ces résultats peuvent être rapprochés de ceux des recherches de R. Legendre et H. Minot sur les ganglions spinaux (1). Ils nous montrent, en somme, que les cellules de Purkinje, comme les grains, ont diminué de volume, bien que la deshydratation tissulaire soit infiniment moins grande ici (20 0/0 - 15 0/0 - 13 0/0), que dans le cas du cervelet type (non imbibé), qui, on le sait, avait perdu 39 0/0 de son eau tissulaire. Il faut donc que les solutions de NaCl , KCl et CaCl^2 à 0,12 N aient diminué la force de rétention d'eau des cellules de Purkinje et des grains, et qu'elles aient augmenté celle d'autres éléments histologiques de l'encéphale, puisque celui-ci pèse plus lourd après sa deshydratation, que le cervelet type.

Il est encore un fait sur lequel nous désirons appeler l'attention : que le cervelet soit immergé dans NaCl , KCl ou CaCl^2 à 0,12 N les modifications constatées dans les cellules de Purkinje et les grains, *sont de même nature* : ces deux éléments ont diminué de volume. Il n'y a donc, en ce qui concerne ces deux éléments, qu'une différence de degré entre l'action exercée par KCl ou NaCl d'une part et CaCl^2 d'autre part ; il ne saurait être question d'une action antagoniste. Nous allons voir, chose curieuse, qu'une concentration très élevée de NaCl va produire sur les grains et les cellules de

(1) R. Legendre et H. Minot. Comptes rendus de la Société de Biologie, T. LXVIII, p. 885, 21 mai 1910, et R. Legendre (loc. cit.), T. LXXV, p. 286, 18 oct. 1913.

Purkinje, une action inverse, en augmentant le volume des premiers, et en diminuant celui des cellules de Purkinje. Mais c'est, nous le répétons, l'influence de la concentration du NaCl qui produit cet effet inverse, ce n'est pas seulement la nature du cation, puisqu'à une concentration de 0,12 N ce dernier exerce une action dans le même sens sur les deux éléments cellulaires.

Nous sommes loin de contester, comme nous l'avons déjà dit, l'intérêt des expériences de Lillie et de Lœb ; et si un même sel (NaCl) peut, à certaine concentration, produire des effets opposés sur deux sortes de cellules faisant partie d'une même région, comment ne serait-il pas possible que deux cations différents produisissent des effets opposés sur certains tissus comme les cils vibratiles de l'arenicola dans l'expérience de Lillie ? Mais ce que nous tenons derechef à faire observer, c'est que les résultats de l'expérience de Lillie ne sauraient s'appliquer à tous les tissus, et que ses conclusions ne peuvent prétendre à avoir une valeur universelle. Il s'ensuit que toute théorie générale de la perméabilité de la cellule qui reposerait sur l'antagonisme des sels de Ca et de Na , est fatalement vouée à l'insuccès, parce qu'elle serait en contradiction avec des faits qui nous paraissent incontestables. Nous verrons dans nos conclusions pourquoi nous insistons si longuement sur ce point.

Cervelets immergés dans les solutions du 3^e groupe. — Sur un cervelet immergé dans NaCl à 2,1 N pendant une heure et demie (période de diminution de poids) sous les tissus, paraissent plus denses que dans un cervelet intact. Les cellules de Purkinje sont plus petites, plus trapues, et très arrondies. Le noyau et le nucléole sont bien visibles. Le noyau, très petit, est entouré d'un espace clair. En somme, la forme des cellules de Purkinje est bien conservée, *mais leur volume est plus diminué* que dans toutes les préparations précédentes.

Les grains sont sensiblement *plus volumineux* que dans les cervelets normaux et *que dans toutes les préparations précédentes*. Leur nucléole est moins visible.

Si enfin, on examine un cervelet immergé dans une solution identique (NaCl à 2,4 N), mais après 15 heures, c'est-à-

dire à la période d'augmentation de poids, on note, chose curieuse, que les cellules de Purkinje sont *toujours diminuées, déchiquetées* ; leur noyau est très petit. La substance chromatophile forme un réseau très granuleux.

Les grains ont une forme étoilée ; chacun d'eux est logé dans un espace clair. *Leur volume, qui suit, dans les fortes concentrations, une loi inverse à celle que suivent les cellules de Purkinje, a subi une très notable augmentation.*

L'examen des cervelets immergés pendant 12 heures dans NaCl, KCl et CaCl² à 0,12 N, nous avait montré l'influence des ions et, en particulier, des *cations* sur les éléments cellulaires ; l'examen des cervelets immergés dans NaCl à 2,4 N vient de nous montrer qu'à l'influence de la *nature* des ions s'ajoute celle de leur concentration.

En effet, dans NaCl à 0,12 N, l'encéphale ne perdait que 20 0/0 de son eau tissulaire ; les cellules de Purkinje et les grains étaient diminué de volume. Dans NaCl à 2,4 N, la deshydratation cellulaire a plus que doublé : les encéphales perdent 56 0/0 de leur eau tissulaire, et cependant, si les cellules de Purkinje semblent suivre une diminution parallèle à la perte d'eau tissulaire (puisque leur volume est plus petit que dans toutes les autres préparations), les grains, au contraire, ont considérablement augmenté de volume. Ces faits montrent qu'une même solution qui modifie l'équilibre aqueux de certains éléments cellulaires, de façon à diminuer leur liaison avec l'eau (cellule de Purkinje), peut, au contraire, augmenter chez d'autres éléments (grains), leur pouvoir de rétention d'eau. Ces faits ne peuvent se comprendre qu'en admettant que chaque cellule a son équilibre physico-chimique qui lui est propre. Cet équilibre, résultat des constantes cellulaires (Mayer et Schaeffer), implique pour chaque cellule un *équilibre aqueux*. Lorsque, par suite de l'apport d'ions, et principalement de cations, l'équilibre cellulaire est rompu ou modifié, il s'ensuit que la teneur en eau, que le pouvoir de rétention d'eau, se modifie dans la cellule soumise à l'action de l'électrolyte, de sorte que celle-ci peut fixer de l'eau ou en éliminer, sans qu'aucun phénomène osmotique entre en jeu. Nous avons maintenant terminé l'exposé de nos recherches ; voyons comment en concilier avec les théories qui ont été émises sur le sujet qui nous occupe.

TROISIÈME PARTIE

Discussion et Conclusions

Généralités. — Si on veut bien se reporter à ce qui a été dit dans l'historique (1), on verra que toutes les théories émises sur la perméabilité cellulaire peuvent se diviser en trois groupes.

Dans le premier se rangent les théories qui concluent à l'existence d'une membrane plus ou moins perméable. Que cette perméabilité soit complète (Dutrochet) ou incomplète (Traube, Pfeffer), — que cette perméabilité soit due uniquement à des propriétés physiques comme le supposent ces auteurs, ou qu'il s'y ajoute des propriétés *chimiques* provenant de la constitution de la membrane (théorie lipoïde d'Overton), — toutes ces théories ont ceci de commun, c'est qu'elles tendent à expliquer les échanges cellulaires par l'existence de phénomènes osmotiques conditionnés, eux-mêmes, par la présence d'une *membrane limitante* du protoplasma.

Les théories qui rentrent dans le deuxième groupe sont fondées sur une conception un peu différente des couches superficielles de la cellule.

Osterhout, Spaeth et Clowes (2) considèrent la couche limitante du protoplasma comme un *système physico-chimique* dont la perméabilité serait fonction de l'état d'agrégation des colloïdes contenus dans cette couche limitante ; et l'état d'agrégation de cette dernière serait essentiellement muable, modifiable par les électrolytes contenus dans le milieu extérieur.

Ces théories ont enfin ceci de commun : c'est qu'elles reposent toutes sur certaines actions antagonistes des sels minéraux.

(1) Voir l'Histoire chap. I, II, III, IV.

(2) Voir l'Histoire chap. IV.

La théorie émise par Mayer et Schaeffer (1) constitue, elle seule, le troisième groupe.

Mayer et Schaeffer envisagent les échanges cellulaires du point de vue purement *statique* et indépendamment de toute membrane limitante. Au lieu de faire dépendre l'imbibition des tissus de la pression osmotique, ils la font dépendre de leur « *pression d'imbibition* ».

Comment les résultats de nos recherches se concilient-ils ou s'opposent-ils à ces différentes théories ?

Dans l'exposé de nos recherches, nous avons montré, chemin faisant, que les phénomènes observés par nous étaient inconciliables avec les lois de l'osmose. Nous avons assez longuement insisté sur ce point pour n'y pas revenir ici. Les théories du premier groupe qui, toutes, attribuent exclusivement les échanges cellulaires à des phénomènes osmotiques, ne sauraient donc expliquer les faits observés par nous sur le tissu musculaire et le tissu nerveux.

Arrivons maintenant aux théories d'Osterhout, de Spaeth et de Clowes.

Objection à l'hypothèse d'Osterhout. — Malgré l'intérêt des travaux de cet auteur, nous passerons rapidement sur ses conclusions. Osterhout pense que l'antagonisme qu'il a observé sur les laminaires, entre les sels de calcium et ceux de sodium, pourrait trouver une *application générale* en physiologie.

C'est simplement contre l'application *générale* des actions antagonistes qu'il a observées que nous nous élevons, et cela, parce que dans nos expériences, les actions des sels de Na, de K et de Ca, quoique différentes, ne se sont pas révélées comme des actions antagonistes. Nous avons attiré l'attention sur ce fait en relatant nos expériences (2) et n'y reviendrons pas. Mais nous allons examiner d'un peu plus près la théorie de Spaeth.

Objections à la théorie de Spaeth. — Nous savons que, d'après cet auteur, *ce serait l'état de solution ou d'aggrégation* des colloïdes superficielles du protoplasma qui conditionnerait la perméabilité ou l'imperméabilité cellulaire.

(1) Voir historique chap. III.

(2) Voyez l'exposé de nos recherches page 342.

Spaeth, on l'a vu (1), n'insiste pas sur la structure de la couche superficielle, il reconnaît que sur les cellules animales, on n'a pas constaté de *membrane* ; mais il n'en n'est pas moins vrai qu'il suppose, à la surface de la cellule, une *couche limitante*, une *limite colloïdale* distincte du reste du protoplasma, et dont la fonction serait de permettre ou de s'opposer au passage de certaines substances vers l'intérieur de la cellule. Toutes les substances agiraient d'une façon ou d'une autre sur l'état d'agrégation (donc de perméabilité) de la couche limitante ; et à ce point de vue, ces substances se diviseraient en deux catégories : les unes, comme CaCl_2 , qui restreignent la perméabilité en diminuant la *dispersion* des colloïdes superficiels, — et les autres, comme NaCl , qui augmentent la perméabilité en augmentant la *dispersion* des colloïdes superficiels.

Toutefois, une substance du premier groupe peut, lorsque son action est assez continue, augmenter la viscosité au point de précipiter les colloïdes hors de la phase liquide, et, dans ce cas, la perméabilité, après avoir d'abord diminué de plus en plus, se trouve *soudainement* favorisée.

Aux objections d'Osterhout (2), à la théorie de Spaeth, nous ajoutons celles que nous avons faites à Osterhout lui-même au sujet de l'antagonisme des sels de Na et de Ca . Nous avons montré (3), que dans les phénomènes d'imbibition observés sur le tissu nerveux, les deux sels produisent des variations de poids dans le *même sens* et, par conséquent, n'agissent pas comme des sels antagonistes (1).

Cependant, avant d'avoir établi ce que nous avons appelé *les constantes de deshydratation* (5), constantes qui devaient nous conduire aux mêmes conclusions que Mayer et Schaeffer, nous avons été séduits par la théorie de Spaeth ; et nous avons, à un moment donné, espéré qu'elle nous expliquerait certains faits observés dans le cours de nos expériences. Nous voudrions dire, en quelques mots, les réflexions que nous avait suggérées l'ingénieuse hypothèse de Spaeth.

Nous savons que la planche 2 représente les courbes d'im-

(1) Voy. l'histoire chap. IV, pages 192 et suivantes.

(2) Voir l'histoire page 201.

(3) Voir l'exposé de nos recherches.

(4) Mayer et Schaeffer (voir plus loin), ont constaté que sur l'imbibition du foie, les cations K , Na et Ca , exerçaient également une action de même sens.

(5) Voir page 360.

bibition d'encéphales immergés dans l'eau pure, et dans NaCl à des concentrations progressivement croissantes. D'autre part, il ressort de nos expériences sur l'action comparative de KCl , NaCl et CaCl^2 , que nous pourrions obtenir avec chacun de ces sels une suite des courbes, semblables à celles figurées sur la planche 2, à la condition d'employer des solutions de KCl *plus concentrées* et des solutions de CaCl^2 *beaucoup moins concentrées* que les solutions de NaCl représentées sur cette planche.

Ceci dit, supposons une suite de courbes analogues à celles figurées planche 2, mais obtenues avec des solutions respectivement beaucoup moins concentrées de CaCl^2 ; et essayons d'expliquer les phénomènes d'imbibition observés au moyen de la théorie de Spaeth. Il est évident que la diminution du maximum de poids et de la vitesse d'accroissement, diminution d'autant plus marquée que la concentration serait forte, s'expliquerait parfaitement par l'action du CaCl^2 sur la cohésion, la viscosité des couches superficielles. Cette action ayant pour corollaire la *restriction* de la perméabilité, plus la concentration en CaCl^2 serait forte, plus nous devrions nous attendre à trouver la perméabilité diminuée, la vitesse d'accroissement de poids moindre, et le maximum moins élevé, ce qui est conforme à nos *pesées relatives aux solutions du premier groupe*.

Mais c'est surtout pour expliquer l'action des solutions du deuxième groupe (solutions-limite), que la théorie de Spaeth nous avait séduit tout d'abord.

Quelles sont les caractéristiques de ces solutions ? C'est que pendant un certain temps, elles laissent le poids de l'encéphale invariable, et qu'après un temps variable (après une heure ou deux), ces solutions imbibent les tissus comme celles du premier groupe. Ces faits s'expliqueraient assez bien avec l'hypothèse de Spaeth.

En effet, la viscosité augmentant avec la concentration de CaCl^2 , on conçoit qu'il arrive un moment où cette concentration (qui correspondrait à celle d'une solution-limite de CaCl^2) bloquerait complètement la couche superficielle de la cellule. Mais ensuite, l'action de CaCl^2 continuant à s'exercer sur les colloïdes cellulaires, les précipiteraient hors de la phase liquide ; l'état d'agréation des couches superficielles subirait alors cette transformation soudaine dont parle

Spaeth, et qui aurait pour corollaire une perméabilité aussi marquée que subite, succédant à la période d'imperméabilité absolue (quoique, cependant, il serait un peu difficile de comprendre que le CaCl^2 ait provoqué le *blocage immédiat* de la couche superficielle et que son action n'ait pas permis à la perméabilité de la cellule de se manifester au moins pendant quelque temps, c'est-à-dire pendant le temps nécessaire à ce que les colloïdes superficiels, doués normalement d'une certaine perméabilité, aient eu le temps de passer par les différents stades de viscosité croissante qui séparent la perméabilité initiale de l'imperméabilité absolue).

Mais comment expliquer la direction des courbes obtenues avec les solutions du troisième groupe ? Nous savons que, dans ces solutions, les encéphales subissent, *dès leur immersion*, une diminution de poids suivie d'une réimbibition des tissus. Or, la diminution de poids du début implique, évidemment, la perméabilité de la membrane de dedans en dehors. On comprend bien qu'une concentration élevée de CaCl^2 produise rapidement (1) le blocage complet des colloïdes superficielles (comme on pouvait, à la rigueur, le supposer pour les *solutions-limite*), et on conçoit que si une solution-limite à x 0/00 produit la *précipitation* (perméabilité soudaine) des colloïdes, après une heure ou deux, une solution à $(x + 1)$ 0/00, produise cette perméabilité soudaine plus rapidement encore ; mais s'il nous paraît déjà difficile de comprendre qu'une solution-limite à x 0/00 produise *d'emblée* le blocage des colloïdes, il est encore bien plus difficile d'admettre qu'une solution (fût-elle à $(x + 1)$ 0/00), amène les colloïdes à l'état de précipitation (perméabilité soudaine), sans les avoir préalablement amenés au stade d'imperméabilité absolue, stade qui devrait se traduire, comme dans le cas des solutions-limite, par une invariabilité de poids de l'organe immergé. Cependant, nous nous étions demandé un instant si la perte de poids du début (dans les solutions du 3^e groupe), ne pourrait pas être interprétée comme une *expression d'eau* hors des couches superficielles, expression d'eau due au blocage soudain des colloïdes superficiels. Ne pourrait-on pas supposer que l'augmentation extra-rapide de la cohésion, de l'agglomération des parties des colloïdes de la surface eût chassé une certaine

(1) « Rapidement » n'est pas synonyme d' « immédiatement ».

quantité d'eau hors de la cellule ? et alors le stade, non plus de viscosité maxima, mais de *précipitation* des colloïdes hors de la phase liquide, ce stade de perméabilité soudaine se serait manifesté par la réimbibition (point de rebroussement) (1) des tissus immergés ? Nous ne pensons pas qu'une telle interprétation soit soutenable, et voici pourquoi.

1° La diminution de poids du début atteint parfois 20 0/0, c'est-à-dire le cinquième du poids total de l'encéphale. Est-il possible de penser qu'une quantité aussi énorme d'eau ait pu faire partie de la couche superficielle infiniment mince qui recouvrirait le protoplasma cellulaire ?

2° Si l'augmentation de cohésion des colloïdes superficiels s'accompagne d'une expression d'eau qui atteindrait jusqu'à 19 et 20 0/0 du poids total de l'encéphale, pourquoi cette densité des colloïdes, qui atteint déjà son maximum dans les solutions-limites (immédiatement avant le stade de précipitation et de perméabilité soudaine), ne s'accompagne-t-elle d'aucune expression d'eau, c'est-à-dire de perte de poids ?

3° Supposons un instant que la diminution du début soit due à l'expression d'eau dont nous venons de parler, le point de rebroussement et la réimbibition devraient, évidemment, être considérés comme conséquence de la *précipitation* des colloïdes superficiels. Et, comme le fait remarquer Osterhout dans l'article que nous avons analysé (2), plus la concentration serait élevée, plus le point de rebroussement devrait se produire *tôt*. Or, c'est le contraire qui se produit : *plus la solution (du 3^e groupe) est concentrée, plus le point de rebroussement a lieu tard*, et MOINS LA RÉIMBIBITION EST MARQUÉE.

La théorie de Spaeth ne nous permet donc pas d'expliquer nos résultats d'une façon satisfaisante, même en faisant abstraction des expériences faites avec NaCl et KCl . Mais ces dernières sont plus inconciliables encore avec la théorie de Spaeth. Nous avons vu, en effet, que selon cet auteur, les sels de Na et de K seraient des *liquéfiants* des colloïdes superficiels. Ces sels, contrairement à CaCl_2 , augmenteraient la perméabilité normale de la cellule et devraient, par conséquent, agir en provoquant une augmentation de poids plus considérable sur les encéphales immergés dans leurs solutions, que celle qu'ils subissent quand ils

(1) Voir l'exposé de nos recherches et planche 2.

(2) Voir historique chap. IV.

sont immergés dans l'eau pure. On sait, au contraire, que ces sels agissent dans le même sens que CaCl_2 , en restreignant la perméabilité des cellules. Il est évident que des variations de poids *de même sens*, obtenues avec KCl , NaCl et CaCl_2 ne sauraient s'expliquer par une théorie suivant laquelle les deux premiers sels devraient produire des effets opposés à ceux produits par CaCl_2 .

C'est encore la même objection que nous ferons à l'hypothèse de Clowes, mais en y ajoutant à l'appui les résultats de quelques expériences très comparables à celles que fit ce dernier auteur.

Objections à la théorie de Clowes. -- Nous avons vu (1) que la théorie de Clowes, comme celle de Spaeth, repose sur l'antagonisme des sels de sodium et de calcium. Il serait superflu d'insister sur la valeur des travaux de Clowes, mais la question est de savoir si ses observations, que l'on peut rapprocher de celles de Lœb, Lillie, Osterhout et de Spaeth, trouvent une *application générale* et s'adaptent à tous les tissus. Nous avons déjà dit pourquoi toute théorie reposant sur l'action antagoniste des sels de calcium et de sodium, était, à notre avis, incompatible avec nos expériences.

Cependant, une curieuse coïncidence nous incite à comparer quelques chiffres recueillis dans nos expériences à ceux observés par Clowes, lorsqu'il compara l'action d'une solution pure de soude à celle exercée par cette même solution additionnée de NaCl , de CaCl_2 et enfin de ces deux sels à la fois (2).

On sait que Lœb (3) avait déjà attiré l'attention sur l'action favorable exercée sur la vie de protoplasma par une solution composée de 100 moléc. de NaCl + 2 moléc. de KCl + 2 moléc. de CaCl_2 . Sur les conseils de M. le prof. Lapicque, nous avons voulu comparer les phénomènes d'imbibition présentés par des encéphales imbibés dans une solution de NaCl pure, à ceux que l'on observe en immergeant des encéphales dans une solution de NaCl de même concentration, mais à laquelle on a ajouté soit 2 molécules de KCl pour 100 molécules de NaCl , soit 2 molécules pour 100 de

(1) Histor. chap. V.

(2) Voyez page 208.

(3) Voyez page 124.

CaCl^2 , soit enfin 2 molécules de KCl et 2 molécules de CaCl^2 pour 100 molécules de NaCl . Voici les augmentations de poids observées.

		après 4 heures	apr. 17 h. d'imbib.
	NaCl pur	+ 4 %	+ 17 %
100 moléc. NaCl + 2 mol. KCl		+ 5 %	+ 16 %
100 mol. NaCl + 2 mol. CaCl^2		+ 4 %	+ 13 %
100 mol. NaCl + 2 mol. KCl	}	+ 4,5 %	+ 19 %
+ 2 mol. CaCl^2			

On voit :

1° que dans toutes ces solutions, l'encéphale augmente de poids ;

2° que l'augmentation de poids est sensiblement la même dans NaCl pur, que dans $\text{NaCl} + \text{KCl}$;

3° qu'il y a très peu de différence entre l'action d'une solution pure de NaCl (17 0/0) et celle d'une solution de même concentration, à laquelle on ajoute 0,02 molécules de KCl et 0,02 molécules de CaCl^2 (19 0/0) ;

enfin, 4° que l'addition de 2 molécules de CaCl^2 à une solution de (100 molécules de $\text{NaCl} + 2$ molécules de KCl) augmente l'imbibition de l'encéphale à la 17^e heure ; mais il est bon de noter qu'à la 1^{re} heure, l'addition du CaCl^2 avait plutôt légèrement diminué l'accroissement de poids, puisque $\text{NaCl} + \text{KCl}$ nous donnaient + 5 0/0 à la quatrième heure, alors que $\text{NaCl} + \text{KCl} + \text{CaCl}^2$ (dans les proportions indiquées), nous fournissent une augmentation de poids de 4,5 0/0.

Quoi qu'il en soit, il est facile de voir que nos résultats ne sauraient, en aucune façon, être interprétés de la même façon que ceux observés par Clowes.

Voici une autre expérience faite par nous et qui nous paraît intéressante :

un cerveau imbibé dans NaCl à 7 0/00 augmente après 5 heures de 21 à 23 0/0,

et après 22 heures de 49 à 53 0/0 (1).

Or, en immergeant un encéphale dans une solution composée de 100 molécules de NaCl à 7 0/00 $\frac{(\text{N})}{8}$ et 2 molécules

de CaCl^2 , également à $\frac{\text{N}}{8}$, l'augmentation de poids est la même après 5 heures (23 0/0) et presque la même après

(1) Voir exposé de nos recherches.

22 heures d'immersion (45 0/0, au lieu de 48 à 53 0 0). On peut donc dire que l'addition de 2 molécules de CaCl^2 aux 100 molécules de NaCl , n'a eu aucune influence sur l'imbibition du tissu nerveux. L'addition de 0,02 molécule de CaCl^2 , soit à une solution de NaCl , soit à une solution de $\text{NaCl} + 0,02$ molécule KCl n'exerce donc dans nos expériences aucune action *protectrice* (1) ; et malgré l'intérêt qu'offrent les recherches de Clowes, nous ne pouvons expliquer par elles les résultats de nos expériences.

Les résultats de nos expériences sont-ils conciliables avec l'hypothèse de Mayer et Schaeffer? — On sait que ce qui caractérise la manière de voir de ces auteurs, c'est qu'ils envisagent la question de la perméabilité cellulaire du point de vue *statique*, au lieu de l'envisager du point de vue dynamique et qu'ils se fondent sur la *pression d'imbibition* des colloïdes cellulaires, pour expliquer les mouvements de l'eau, en dehors de toute membrane limitante.

Si on se rappelle que la pression d'imbibition des colloïdes (ou leur liaison avec l'eau), peut être modifiée d'une façon spéciale par chaque électrolyte, on comprendra immédiatement que des solutions de différents sels modifient la *pression d'imbibition* d'un tissu donné, en faisant varier sa grandeur suivant le sel employé.

C'est ce que nous montrent nos expériences sur le tissu musculaire. Le mouvement de l'eau n'est plus alors conditionné par des phénomènes osmotiques, mais par l'interaction des colloïdes cellulaires et les électrolytes qui agissent sur eux par leur nature et leur concentration.

Ces interactions varient, d'ailleurs, d'un tissu à l'autre puisque les constituants de chaque tissu y sont contenus dans des proportions différentes : c'est ce qui explique que les phénomènes d'imbibition du tissu musculaire sont si différents de ceux que l'on observe sur le tissu nerveux.

Nous pouvons aller plus loin encore, et si les proportions des constituants cellulaires ne varient pas seulement d'un tissu à l'autre, mais d'une sorte de cellule à l'autre, on comprend qu'une solution donnée (NaCl , KCl ou CaCl^2), agisse d'une façon différente sur une cellule de Purkinje et sur un grain du cervelet, en modifiant d'une façon spéciale les propriétés lyophiles de chaque espèce de cellule ; et nous ne

(1) Voir page 124.

sommes plus surpris qu'une même solution fasse augmenter le volume des grains (1), alors qu'elle fait diminuer celui des cellules de Purkinje.

Enfin, si, selon l'hypothèse de Mayer et Schaeffer, chaque électrolyte modifie, selon sa nature et sa concentration, le pouvoir de rétention d'eau d'un tissu, on conçoit que des encéphales immergés dans diverses solutions de sels neutres aient été le siège d'interactions telles (entre leurs colloïdes et les électrolytes), que leur pouvoir de rétention d'eau soit une constante pour une solution donnée et une variable pour les différentes solutions. C'est ce que vérifie, dans ses grandes lignes, le tableau reproduit page 361.

Un mot encore, avant de résumer nos conclusions, sur le mode d'action des trois électrolytes que nous avons étudiés : NaCl , KCl et CaCl^2 .

Si le muscle est plus imbibé dans KCl que dans NaCl , et dans NaCl que dans CaCl^2 (ce qui est le cas également pour l'encéphale de passereau), le poumon, au contraire, s'imbibe plus dans CaCl^2 que dans KCl , et dans KCl que dans NaCl . Pour le foie, par contre, *l'action restrictive des trois cations est à peu près équivalente* (Mayer et Schaeffer). Il ressort donc des recherches de ces auteurs, comme des nôtres, que les cations K , Na et Ca exercent toujours une action *de même sens* sur l'imbibition de tous les tissus qu'ils ont examinés, et, de plus, que la *valeur relative* de l'action restrictive d'un cation par rapport à celle d'un autre cation, varie selon la composition chimique du tissu immergé. Nous sommes loin, n'est-il pas vrai, des actions dites antagonistes entre Ca et Na , dont il a été si souvent question.

Malgré l'intérêt du travail de Mayer et Schaeffer, peut-on dire que la question des échanges cellulaires soit résolue définitivement ? Ce serait, nous en avons la conviction, dépasser la pensée de ces auteurs eux-mêmes. Mais ce qu'ils ont eu le grand mérite de mettre en lumière, c'est que la structure du protoplasma « apparaît comme résultant de l'équilibre entre tous ses éléments constitutants, y compris l'eau qui est le plus important par la masse ; et que cet équilibre, essentiellement muable et modifiable sous l'influence des différents électrolytes, suffit à conditionner les échanges d'eau entre la cellule et son milieu, sans qu'aucun phénomène osmotique n'entre en jeu ».

(1) Voir page 369.

Conclusions. — Résumons maintenant cette discussion en quelques pages qui seront nos conclusions.

Imbibition (1) du tissu nerveux dans l'eau distillée. — Immérgés dans l'eau distillée, les encéphales de passereau subissent immédiatement une augmentation de poids qui continue pendant cinq heures environ ; puis ils diminuent de poids.

L'imbibition des encéphales dans l'eau distillée ne paraît pas présenter les caractères de phénomènes osmotiques ; et cela pour les trois raisons suivantes :

1° L'appel d'eau par le tissu nerveux est infiniment plus considérable que celui constaté dans un osmomètre confectionné avec des substances douées de fortes pressions osmotiques, comme, par exemple, des solutions sucrées.

2° Le maximum ne se maintient pas un certain temps, comme cela a lieu dans un système osmotique ; mais il est suivi *immédiatement*, d'une diminution de poids.

Enfin, 3° la période de descente, au lieu d'être lente, comme dans les phénomènes d'osmose, est au moins aussi rapide que la période ascendante (du moins pendant les premières heures qui suivent le maximum).

Imbibition d'encéphales dans des solutions d'un même sel (NaCl), à des concentrations différentes. — Quelle que soit la concentration étudiée, le NaCl exerce toujours une action restrictive sur l'imbibition. La vitesse d'accroissement et le maximum de poids diminuent à mesure que la concentration augmente. Le maximum est toujours suivi d'une diminution de poids, d'ailleurs plus lente que lorsque les encéphales sont immérgés dans l'eau.

Tout ce que nous venons de dire est vrai pour les concentrations comprises entre 0 0/00 (hypotonie absolue) et 70 0/00 (solutions du premier groupe).

Lorsque les solutions atteignent une concentration de 70 0/00 (solutions du 2^e groupe, solutions-limite), les encéphales restent un certain temps sans changer de poids ; puis ils s'imbibent comme dans les solutions du premier groupe.

Lorsqu'enfin la concentration dépasse 70 0/00 (1,2 N), les encéphales subissent toujours une diminution de poids au début ; puis, après quelques heures, ils récupèrent leur poids initial et le dépassent (sauf dans les solutions très fortement concentrées).

(1) Voir la note page 28.

Ces phénomènes s'écartent des lois habituelles de l'osmose par les caractères suivants :

1° Dans les solutions du premier groupe, l'imbibition n'est jamais proportionnelle à la concentration de la solution, ce qui devrait être le cas, si cette imbibition était conditionnée par des phénomènes osmotiques.

2° Le tissu nerveux s'imbibe dans des solutions fortement concentrées (jusqu'à 69 0/00).

3° Les courbes d'imbibition obtenues dans les solutions-limite (où les encéphales s'imbibent après être restés pendant quelque temps sans changer de poids) et les courbes fournies par les solutions du 3^e groupe (diminution de poids suivie de réimbibition), ne sont pas explicables par les lois de l'osmose.

Imbibition d'encéphales dans des solutions de NaCl, KCl et CaCl² isotoniques entre elles. — KCl et CaCl² exercent comme NaCl une action restrictive sur l'imbibition du tissu nerveux quelle que soit la concentration de leur solution.

Cette action est un peu moins marquée avec KCl qu'avec NaCl ; et beaucoup plus marquée avec CaCl² qu'avec NaCl.

Dans nos expériences, l'action des cations Na, K et Ca s'exerce toujours dans le même sens ; jamais ces cations ne présentent d'action antagoniste.

Si on mélange les trois sels en ajoutant à une solution de 100 molécules de NaCl, soit 2 molécules de KCl, soit deux molécules de CaCl², soit enfin 2 molécules de KCl + 2 molécules de CaCl², les résultats obtenus sont très peu différents de ceux obtenus avec cette même solution de NaCl pur. Les phénomènes particuliers observés par Lœb, Lillie, Osterhout, Clowes, etc., ne sont donc pas d'une application générale ; toute théorie touchant la perméabilité cellulaire qui s'appuierait sur l'antagonisme de Ca d'une part et de K et Na d'autre part, ne saurait être considérée comme en accord avec les observations de Mayer et Schaeffer et les nôtres.

Comparaison avec les phénomènes d'imbibition observés sur le tissu musculaire (gastrocnémien). — L'imbibition du tissu musculaire se distingue de celle des tissus nerveux :

1° Par l'irrégularité de son imbibition en opposition avec la régularité que l'on observe dans les phénomènes d'imbibition du tissu nerveux dans les solutions de NaCl à $\frac{N}{8}$.

2° Par la vitesse d'accroissement et le maximum de poids.

3° Par la forme des courbes d'imbibition.

4° Enfin l'imbibition du tissu musculaire s'écarte notamment des lois de l'osmose en ce qu'une solution de CaCl_2 produit une notable *diminution de poids* du muscle immergé, alors que des solutions équimoléculaires de NaCl et KCl produisent une notable augmentation des muscles qui y sont immergés.

Imbibition de substance blanche et de substance grise. — L'expérience montre que c'est la substance grise qui influe le plus sur le sens du phénomène.

Action de la température sur les phénomènes d'imbibition observés sur les cordons blancs de la moelle. — L'élévation de température favorise légèrement l'imbibition.

Deshydratation des encéphales dans l'alcool à 90° ; constantes de deshydratation. — Quand on deshydrate un encéphale frais dans de l'alcool à 90° il perd 39 0/0 de son poids. Si on immerge préalablement l'encéphale dans de l'eau pure et qu'on le deshydrate ensuite dans l'alcool, on voit que, *quelqu'ait été son accroissement de poids*, il perd toujours 39 0/0 de son poids global (poids primitif augmenté de son accroissement de poids dû à l'imbibition).

On peut donc parler d'une *constante de deshydratation*. Cette dernière est indépendante de l'accroissement ou de la diminution de poids subie par l'encéphale immergé dans des solutions salines ; mais elle est fonction de la nature et de la concentration du sel dissous, chaque solution imprimant à l'encéphale immergé une *constante de deshydratation particulière*, quel que soit le temps que dure l'immersion.

Si on deshydrate 3 encéphales, l'un n'ayant jamais été immergé, le second ayant été immergé dans KCl à 1,2 N, mais qui n'a pas changé de poids (solution-limite), et enfin, le troisième après avoir été immergé dans CaCl_2 à 2,1 N assez longtemps pour qu'après avoir diminué de poids, il ait récupéré exactement son poids initial, on voit que ces trois encéphales, qui, nous le répétons, avaient le même poids avant leur deshydratation, que celui qu'ils avaient au sortir de l'animal, ont un coefficient de deshydratation différent. Ce dernier est de 39 0/0 pour l'encéphale frais, de 41 0/0 pour celui préalablement immergé dans KCl à 1,2 N, et enfin de 48 0/0 pour celui qui avait été immergé dans CaCl_2 à 2,1 N.

Il résulte de ces faits :

1° Que la constante de deshydratation n'est pas fonction de l'eau d'imbibition.

2° Que cette constante, fonction uniquement des ions en solution, peut être influencée par ces derniers, sans qu'il y ait eu le moindre phénomène osmotique en jeu (cas de l'encéphale qui est resté inchangé dans KCl à 1,2 N).

3° Que l'action des ions et en particulier des cations, paraît consister en ceci, que K diminue la liaison du gel protoplasmique avec l'eau qui y est contenue, et que Ca diminue cette liaison davantage que K (Mayer et Schaeffer), ce qui expliquerait qu'un encéphale immergé dans KCl se deshydrate plus (44 0/0), qu'un encéphale frais (39 0/0), et qu'un encéphale imbibé dans CaCl^2 se deshydrate plus (48 0/0) qu'un encéphale immergé dans KCl.

Mais tous les chiffres relevés dans nos pesées ne répondent pas à cette hypothèse ; il faut donc attendre de nouvelles recherches pour préciser le mécanisme de l'action des électrolytes sur l'hydrophilie du gel protoplasmique.

Examen des coupes microscopiques. — Il montre que dans un même tissu (cervelet), des éléments histologiques différents (cellules de Purkinje et grains), peuvent subir les uns une diminution de volume et les autres une augmentation de volume, ce qui prouve que les phénomènes d'imbibition et de deshydratation consécutive, varient avec la constitution physico-chimique de chaque cellule.

En somme, tous les phénomènes observés par nous sont en opposition avec toute théorie, suivant laquelle l'imbibition des tissus nerveux et musculaire serait conditionnée exclusivement par des phénomènes osmotiques ayant lieu à travers une membrane cellulaire quelconque.

Nos expériences nous paraissent montrer que chaque tissu et que chaque sorte de cellule s'imbibent et se deshydratent d'une façon qui leur est particulière. Ces phénomènes sont conditionnés par le degré de liaison qui existe entre le gel protoplasmique et l'eau qui entre dans sa composition. Mayer et Schaeffer ont montré l'importance, à ce point de vue, du coefficient lipocyttique et l'action que les électrolytes pouvaient exercer sur ce dernier.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

1° GÉOLOGIE APPLIQUÉE. — Le Cotentin (Géographie Physique).

2° BOTANIQUE. — La Bactéridie charbonneuse.

Vu et approuvé: Paris, le 4 janvier 1918.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

PAUL APPELL.

Vu et permis d'imprimer.

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,

L. POINCARÉ.

.....
Cahors & Alençon, Imprimeries Coueslant. — 19.886
.....

